

**XIX Encontro do Talento Estudantil da
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Resumos

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento***

**XIX Encontro do Talento Estudantil da
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Resumos

*Zilda Maria de Araújo Ribeiro
José Eustáquio Menezes
Irene Martins*

Editores Técnicos

***Embrapa
Brasília, DF
2014***

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Parque Estação Biológica – PqEB

Av. W5 Norte (final)

CEP: 70770-917 Brasília, DF

Fone: (61) 3448-4700/(61) 3448-4739

www.embrapa.br

<https://embrapa.br/fale-conosco/sac/>

Unidade responsável pela edição

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Comitê Local de Publicações (CLP)

Presidente

Maria Isabela Lourenço Barbirato

Secretário executivo

Thales Lima Rocha

Supervisão editorial: *Zilda Maria de Araujo
Ribeiro*

Membros

Projeto gráfico: *Jose Cesamildo Cruz
Magalhães*

Rosameres Rocha Galvão

Daniela Aguiar de Souza

Lucas Macahdo de Souza

Márcio Martinelli Sanches

Lígia Sardinha Fortes

Capa: *Adilson Amaral Werneck*

Suplentes

João Batista Tavares da Silva

Ana Flávia do Nascimento Dias Côrtes

1ª edição

CD-ROM (2014): 250 exemplares

A REDAÇÃO DOS RESUMOS É DE INTEIRA RESPONSABILIDADE DOS AUTORES

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei Nº 9.610)

Dados Internacionais da Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

E 53 Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (19 : 2014 : Brasília, DF).

XIX Encontro do Talento Estudantil da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: resumos. / Zilda Maria de Araújo Ribeiro, José Eustáquio Menezes, Irene Martins, editores técnicos. – Brasília, DF : Embrapa, 2014.

152 p. ; 1 CD-ROM

ISBN: 978-85-7035-445-7

1. Recursos genéticos. 2. Biotecnologia. 3. Controle biológico. I. Ribeiro, Zilda Maria de Araújo. II. Menezes, José Eustáquio. III. Martins, Irene. IV. Título. V. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

CDD 575.1

Autores

Zilda Maria de Araújo Ribeiro

Bióloga, mestre em fitopatologia, analista na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

José Eustáquio Menezes

Engenheiro agrônomo, mestre em agronomia, pesquisador na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Irene Martins

Bióloga, mestre em ciências agrárias, analista na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

COMISSÃO ORGANIZADORA

Zilda Maria de Araújo Ribeiro – Coordenação
Irene Martins
José Eustáquio Menezes
João Batista Tavares da Silva
Rosana Falcão
Adilson Amaral Werneck
Ingrid Vicente do Reis
Francisco Régis Ferreira Lopes
Maria Fernanda Diniz Avidos
Irene Maria Guará Lobo
Maria das Dores Vale Medeiros
Rosângela Zansávio
Thales Lima Rocha
Hervécia Fernanda F. de Oliveira

COMITÊ CIENTÍFICO

João Batista Tavares da Silva – Coordenação
Maria Elita Batista de Castro
Antonieta Nassif Salomão
Denise Navia Magalhães Ferreira
Diva Maria de Alencar Dusi
Joséilde Oliveira Silva Werneck
Juliano Gomes Pádua
Maurício Machaim
Rogério Biaggioni Lopes
Vânia Cristina Rennó Azevedo
Vera Tavares de Campos Carneiro

COMISSÃO JULGADORA

Fábio Bueno dos Reis Junior – Embrapa Cerrados
Fabrício Escarlante Tavares – UniCEUB
Galina Gulis – Biologia Molecular/UnB
Helson Mario Martins do Vale – Fitopatologia/UnB
Kalinka de Melo Carrijo – Anvisa
Larissa Pereira de Castro Vendrame – Embrapa Hortaliças
Léia Cecília de Lima Fávaro – Embrapa Agroenergia
Pacelli José Maracci Zahler – DSV/MAPA
Rinaldo Wellerson Pereira – UCB
Rita de Cássia Pereira Carvalho – Fitopatologia/UnB

Apresentação

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Cenargen realizou nos dias 26 e 27 de novembro de 2014 o XIX Encontro do Talento Estudantil, evento que há 19 anos vem intensificando a interação entre pesquisadores, professores e estudantes das instituições de pesquisa e ensino no Distrito Federal.

O Encontro busca incentivar, aprimorar e valorizar a produção científica dos estudantes de graduação e pós-graduação, que atuam na pesquisa de caracterização, conservação e biotecnologia de recursos genéticos animais, microbianos e vegetais. Também viabiliza a divulgação dos resultados de pesquisa por eles desenvolvidos sob a orientação das equipes das quais eles participam. Assim, a Embrapa tem contribuído com a formação acadêmica e científica brasileira, oferecendo aos estudantes chance de aprender e praticar o método científico e outros conhecimentos complementares, bem como de interação com pesquisadores com vasta experiência.

Neste XIX Encontro, 116 trabalhos foram expostos sob forma de pôsteres e apresentados para uma comissão julgadora constituída por pesquisadores e ou professores de unidades da Embrapa, MAPA, ANVISA, Superintendência da Agricultura, Universidade de Brasília-UnB, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB e Universidade Católica de Brasília-UCB. Os resumos dos trabalhos são publicados em anais do evento e disponibilizados no site da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Aqueles selecionados como destaques pela comissão julgadora são homenageados, sendo os estudantes premiados a título de reconhecimento e incentivo. Os seis primeiros trabalhos, primeiro lugar de graduação e pós-graduação das áreas Animal, Microrganismos e Vegetal são também apresentados oralmente, no encerramento do Encontro.

Parabenizamos os participantes do XIX Encontro do Talento Estudantil e agradecemos aos que contribuíram para a sua realização - empregados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia pela orientação, apoio e incentivo aos estudantes e à Embrapa Sede pela disponibilização do espaço para exposição dos trabalhos. Agradecemos ao UniCEUB e à Federação das Associações dos Empregados da Embrapa-FAEE pelo apoio financeiro, bem como às universidades, faculdades, instituições governamentais e de pesquisa, pela valiosa colaboração.

JOSÉ MANUEL CABRAL DE SOUSA DIAS
Chefe-Geral
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

SUMÁRIO

Recursos Animais

001 - ABUNDÂNCIA E DIVERSIDADE DE ABELHAS CAPTURADAS COM ARMADILHA MALAISE EM CAMPOS DE ALGODOEIRO LOCALIZADOS EM PEQUENAS PROPRIEDADES RURAIS NO ESTADO DE GOIÁS [Abundance and diversity of bees captured with malaise trap in cotton fields of small rurals properties in the State of Goiás]

Rossi, M.B.; Torezani, K.R.S.; Aguiar, A.J.C.; Pires, C.S.S.023

002 - ÁCAROS PREDADORES E SUA ASSOCIAÇÃO COM PLANTAS DANINHAS NO SISTEMA SUCESSIONAL SOJA E FEIJÃO-CAUPI [Predatory mites and its association with weeds in the soybean-yardlong bean successional system]

Nery, R.S.; Ferragut, F.; Navia, D.; Querino da Silva, R.B.; Vivian, R.024

003 - ACERVO DA COLEÇÃO ENTOMOLÓGICA DE TRABALHO DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA INSERIDA NO LABORATÓRIO DE ECOLOGIA E BIOSSEGURANÇA [Entomological work collection of Embrapa Genetic Resources and Biotechnology - Ecology and Bio-Security laboratory]

Rossi, M.B.; Souza, L.M.; Torezani, K.R.S.; Pires, C.S.S.; Sujii, E.R.025

004 - A CRIOPRESERVAÇÃO AFETA A LIGAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES DO EPIDÍDIMO DE TOUROS ÀS CÉLULAS DO OVIDUTO [Cryopreservation affects binding of bovine epididymis sperm to oviduct explants]

Cunha, A.T.M.; Carvalho, J.O.; Kussano, N.R.; Dode, M.A.N.026

005 - ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* J.E. SMITH (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) COLETADAS EM LAVOURAS DE *Zea mays* E *Gossypium hirsutum* L. [Analysis of genetic diversity of *Spodoptera frugiperda* populations collected in *Zea mays* and *Gossypium hirsutum* cultures]

Bernardes, F.G.; Ferreira, B.C.; Lima, A.A.; Queiroz, P.R.M.; Martins, E.S.; Monnerat, R.G.027

006 - ANÁLISE EM NANOESCALA DE FIBRAS SINTÉTICAS DE TEIA DA ARANHA *Parawixia bistriata* [Nanoscale analyses of *Parawixia bistriata* synthetic spider silk fibers]

Michalczechen-Lacerda, V.A.; Vianna, G.R.; Murad, A.M.; Silva, L.P.; Rech, E.L.028

007 - ANÁLISE FUNCIONAL DE NEUROPEPTÍDEOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DE *Anthonomus grandis*

Leite, A.G.B.; Firmino, A.A.P.; Antonino-de-Souza Junior, J.D.; Coelho, R.R.; Grossi-de-Sá, M.F.029

008 - ATUALIZAÇÃO DOS BANCOS DE DADOS: “BIBLIOGRAFIA BRASILEIRA DE NEMATÓIDES” E “DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE NEMATÓIDES NO BRASIL” [Update of databases: "Brazilian bibliography of nematodes" and "Geographical distribution of nematodes in Brazil"]

Nascimento, F.B.; Gonzaga, V.; Cares, J.E.; Costa, D.C.; Simon, M.F.; Palhares-Melo, L.A.M.; Mendes, M.A.S.030

009 - AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE *Spodoptera frugiperda* J.E. SMITH (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ORIUNDAS DE ALGODÃO TRANSGÊNICO (975WS) NO ESTADO DO MATO GROSSO ÀS TOXINAS Cry1Ac E Cry1F DE *Bacillus thuringiensis* [Evaluation of the susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) from transgenic cotton (975WS) cultivated in Mato Grosso State susceptibility to the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry1F toxins]

Macedo, C.L.; Oliveira, M.L.C.A.; Martins, E.S.; Soares, C.M.S.; Vicentini, G.C.; Almeida, Z.G.; Damaceno, N.B.; Eckstein, B.; Monnerat, R.G.031

010 - AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO E ESTABILIDADE DO PEPTÍDEO GST-HEMOPRESSINA SINTÉTICO E RECOMBINANTE EXPRESSO EM SISTEMA HETERÓLOGO [Performance evaluation and stability of GST-hemopressin peptide in synthetic form and recombinant form expressed in heterologous system]

Oliveira, D.M.; Prado, G.S.; Pelegrini, P.B.; Vasconcelos, E.A.; Grossi-de-Sá, M.F. .032

011 - BUSCA *IN SÍLICO* DE POTENCIAIS MOLÉCULAS APLICADAS AO CONTROLE DA BROCA GIGANTE DA CANA-DE-AÇÚCAR [*In silico* search for potential molecules applied to the control of banana stem borer]

Pimenta, L.M.; Alencar, S.A.; Fonseca, F.C.A.; Albuquerque, E.V.S.; Grossi-de-Sá, M.F.033

012 - CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES BRASILEIRAS DE *Meloidogyne* [Study of brazilian species of *Meloidogyne*: enzymatic and molecular characterization]

Mattos, V.S.; Monteiro, J.M.S.; Cares, J.E.; Correa, V.R.; Almeida, M.R.A.; Pinheiro, J.B.; Carneiro, R.M.D.G.034

013 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE BORRACHUDOS, *Simulium pertinax* KOLLAR (DIPTERA: SIMULIIDAE), EM DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL [Molecular characterization of populations of the *Simulium pertinax* Kollar (Diptera: Simuliidae) in different regions of Brazil]

Souza, V.S.; Martins, E.S.; Lima, A.A.; Ferreira, B.C.; Soares, C.M.S.; Queiroz, P.R.M.; Monnerat, R.G.035

014 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES ESPÉCIE-ESPECÍFICOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE *Meloidogyne arabicida* E *Meloidogyne izalcoensis* [Development of species-specific markers for identification of *Meloidogyne arabicida* and *Meloidogyne izalcoensis*]

Correa, V.R.; Santos, M.F.A.; Almeida, M.R.A.; Peixoto, J.R.; Castagnone-Sereno, P.; Carneiro, R.M.D.G.036

015 - DINÂMICA FOLICULAR OVARIANA EM BEZERRAS NELORE (*Bos taurus indicus*) DE 2 A 3 MESES DE IDADE [Ovarian follicular dynamics in 2 to 3 months of age Nelore calves (*Bos taurus indicus*)]

Zacarias, T.A.; Sena-Netto, S.B.; Mendonça, A.S.; Franco, M.M.; Figueiredo, R.A. 037

016 - DISTRIBUIÇÃO DE ABUNDÂNCIA DE *Condylostylus* spp. (DIPTERA: DOLICHOPODIDAE), POTENCIAL AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO, EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE HORTALIÇAS [Abundance distribution of *Condylostylus* spp., potential biological control agent, in organic production systems of vegetable]

Harterreiten-Souza, É.S.; Araujo, L.K.P.; Sujii, E.R.; Pujol-Luz, J.R.038

017 - EFEITO DA BIÓPSIA DE CÉLULAS DO CUMULUS DE COMPLEXO-CUMULUS-OVÓCITO E DO CULTIVO INDIVIDUAL NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS [Effect of cumulus cells biopsy from cumulus-oocyte-complex and individual culture system on bovine <i>in vitro</i> embryos production]	
Kussano, N.R.; Leme, L.O.; Franco, M.M.; Dode, M.A.N.	039
018 - EFEITO DO CULTIVO IN VITRO NA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS À EVENTOS EPIGENÉTICOS EM EMBRIÕES BOVINOS NO D14 DE DESENVOLVIMENTO [Effect of <i>in vitro</i> culture in the expression of genes related to epigenetic events in bovine embryo on D14 of development]	
Guimarães, A.L.S.; Machado, G.M.; Ferreira, A.R.; Sprícigo, J.F.W.; Pivato, I.; Franco, M.M.; Dode, M.A.N.	040
019 - EFEITO DO FATOR DE CRESCIMENTO DE FIBROBLASTO 10 (FGF-10) DURANTE A MIV E A PRÉ-MIV NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS [Effect of fibroblast growth fator 10 (FGF-10) during IVM and pre-IVM on bovine <i>in vitro</i> embryo production]	
Diógenes, M.N.; Dode, M.A.N.	041
020 - ESTABELECIMENTO E MANUTENÇÃO DE UMA COLEÇÃO CRIOPRESERVADA DE <i>Meloidogyne</i> spp.	
Cimas, G.A.; Sousa, M.G.; Carneiro, R.M.D.G.	042
021 - ESTRATÉGIA BIOTECNOLÓGICA PARA O CONTROLE DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO: EXPRESSÃO HETERÓLOGA COMO PERSPECTIVA PARA APLICAÇÕES EM TRANSGENIA [Biotechnological strategy for controlling the cotton boll weevil: heterologous expression as a perspective for transgenesis applications]	
Prado, G.S.; Abreu, J.A.C.; Pelegrini, P.B.; Silva, M.C.M.; Grossi-de-Sá, M.F.	043
022 - ESTRATÉGIA MOLECULAR APLICADA AO CONTROLE DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO: SUPEREXPRESSÃO DE TOXINA CRY E SILENCIAMENTO GÊNICO [Molecular approach applied on cottonboll weevil control: Cry toxin overexpression and gene silencing]	
Martins, S.K.L.S.; Lira, P.; Amorim, R.M.S.; Macedo, L.L.P.; Grossi-de-Sá, M.F.	044
023 - EXTRAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E ATIVIDADE QUIMIOTÁXICA DO FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DE <i>Alphitobius diaperinus</i> (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) NO BRASIL [Extraction, identification and behavioral activity of a male-produced aggregation pheromone in the Lesser Mealworm <i>Alphitobius diaperinus</i> Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) in Brazil]	
Hassemer, M.J.; Sant'Ana, J.; Oliveira, M.W.M.; Laumann, R.A.; Borges, M.; Blassoli-Moraes, M.C.	045
024 - FATORES DE MORTALIDADE DE <i>Bemisia tabaci</i> BIÓTIPO B EM CULTIVOS CONVENCIONAIS E ORGÂNICOS DE TOMATE [Factors influencing the mortality of <i>Bemisia tabaci</i> biotype B in conventional and organic tomato crops]	
Ribeiro, J.P.C.S.; Souza, L.M.; Togni, P.H.B.; Sujii, E.R.	046

025 - IDENTIFICAÇÃO DOS HIDROCARBONETOS CUTICULARES DE *Dichelops melacanthus* E *Euschistus heros* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) [Identification of cuticular hydrocarbons of *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) and *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)]

Rossi, M.B.; Blassioli-Moraes, M.C.; Laumann, R.A.; Borges, M.047

026 - IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NUCLEASES INTESTINAIS DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO: UM DESAFIO PARA O SUCESSO DO RNAi NO CONTROLE DE INSETOS-PRAGA [Identification and characterization of cotton boll weevil's gut nucleases: a challenge for RNAi success in insect pest control]

Garcia, R.A.; Nascimento, C.D.; Macedo, L.L.P.; Grossi-de-Sá, M.F.048

027 - IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE HELIOTÍNIOS UTILIZANDO MARCADORES MITOCONDRIAL E NUCLEAR [Molecular identification of Heliothinae using mitochondrial and nuclear markers]

Sabiá Júnior, E.F.; Queiroz, P.R.M.; Martins, E.S.; Monnerat, R.G.049

028 - IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DO BIÓTIPO B DE *Bemisia tabaci* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) EM ÁREAS PRODUTORAS DE ALGODÃO NO ESTADO DO MATO GROSSO [Molecular identification of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype B cotton producing areas in the State of Mato Grosso]

Rodrigues, R.C.R.; Martins, E.S.; Lima, A.A.; Ferreira, B.C.; Soares, C.M.S.; Queiroz, P.R.M.; Monnerat, R.G.050

029 - IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DE LEPIDÓPTEROS OCORRENDO NA CULTURA DA SOJA [Morphological identification of moths in soybean crops]

Santiago, S.D.; Viana, M.C.; Silva, M.L.; Benito, N.P.051

030 - INFLUÊNCIA DE PRÁTICAS AGROECOLÓGICAS LOCAIS E DA PAISAGEM DO ENTORNO NA FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DA MOSCA-BRANCA *Bemisia tabaci* NO DISTRITO FEDERAL [Influence of local agroecological practices and around landscape on population fluctuation of *Bemisia tabaci* in Federal District]

Harterreiten-Souza, É.S.; Araujo, L.K.P.; Pires, C.S.S.; Pujol-Luz, J.R.; Sujii, E.R. ...052

031 - INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL COM SÊMEN CONGELADO EM OVINOS UTILIZANDO PROTOCOLOS A BASE DE PROSTAGLANDINA [Artificial insemination in sheep with frozen semen using prostaglandin based protocols]

Miranda, V.O.; Silva, T.A.S.N.; Dode, M.A.N.; Silva, B.D.M.053

032 - INTERAÇÃO ENTRE PERCEVEJOS (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) E OS PARASITÓIDES DE OVOS *Telonomus podisi* E *Trissolcus basal* (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) MEDIADA POR RASTROS QUÍMICOS

Lagôa, A.C.G.; Blassioli-Moraes, M.C.; Borges, M.; Laumann, R.A.054

033 - O PAPEL DOS MASTOPARANOS COMO IMUNOMODULADORES DA RESPOSTA HUMORAL AOS IMUNÓGENOS DA PEÇONHA DE VESPAS [The role of mastoparans as immunomodulators of humoral responses against immunogens from wasp venom]

Cardozo Filho, J.L.; Freitas Filho, E.G.; Jamur, M.C.; Silva, L.P.055

034 - ORIFÍCIOS EM FRUTOS DE MOGNO COMO SINAL DA PRESENÇA DE <i>Hypsipyla grandella</i> ZELLER (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) [Holes in fruits of mahogany as a sign of the presence of <i>Hypsipyla grandella</i> Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)]	
Castro, M.T.; Montalvão, S.C.L.; Monnerat, R.G.	056
035 - PADRÃO DE METILAÇÃO E HIDROXIMETILAÇÃO GLOBAL EM LEUCÓCITOS E TECIDOS PLACENTÁRIOS DE BEZERROS RECÉM-NASCIDOS [Global methylation pattern of leukocytes and placental tissues in calves]	
Mendonça, A.S.; Franco, M.M.	057
036 - PADRÃO DE METILAÇÃO PARA O GENE IGF2 EM CÉLULAS DO TROFOBLASTO DE EMBRIÕES BOVINOS EM D14: EFEITO DO CULTIVO IN VITRO [Methylation pattern of igf2 gene in trophoblast cells from d14 bovine embryos: effect of <i>in vitro</i> culture]	
Carvalho, J.O.; Franco, M.M.; Dode, M.A.N.	058
037 - PADRÕES DE METILAÇÃO E HIDROXIMETILAÇÃO GLOBAIS EM ESPERMATOZÓIDES DE CABEÇA E CAUDA DE EPIDÍDIMO E ESPERMATOZÓIDES DO EJACULADO DE BOVINOS DA RAÇA GIR [Global methylation and hydroxymethylation patterns of head and tail epididymis spermatozoa and ejaculated sperm from cattle]	
Braga, T.F.; Mendonça, A.S.; Cunha, A.T.M.; Dode, M.A.N.; Franco, M.M.	059
038 - PIRAMIDAÇÃO DE GENES PARA CONTROLE DE <i>Meloidogyne incognita</i> VIA RNA INTERFERENTE [Gene pyramiding for control of <i>Meloidogyne incognita</i> via RNA interference]	
Borges, R.A.K.; Lourenço, I.T.; Fragoso, R.R.; Grossi-de-Sá, M.F.; Albuquerque, E.V.S.	060
039 - PRODUÇÃO DE PROTEÍNA MASP2 (8x) DA ARANHA <i>Parawixia bistriata</i> EM <i>Escherichia coli</i> [Masp2 (8x) protein production from <i>Parawixia bistriata</i> spider in <i>Escherichia coli</i>]	
Bastos, A.R.; Silveira, M.; Michalczechen-Lacerda, V.A.; Carrijo, J.; Murad, A.M.; Vianna, G.R.; Rech, E.L.	061
040 - PROSPECÇÃO DE SEMIOQUÍMICOS E ESTUDOS COMPORTAMENTAIS DE INSETOS <i>Hypothenemus hampei</i> ASSOCIADOS A PLANTAS DE CAFÉ	
Morais, S.D.M.; Blassioli-Moraes, M.C.; Laumann, R.A.; Meneguim, A.M.; Borges, M.	062
041 - RECONHECIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ÁREAS DE REFÚGIO DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO EM PROPRIEDADES PRODUTORAS DE ALGODÃO NO MUNICÍPIO DE LUZIÂNIA, GOIÁS [Recognition and characterization of refuge for the boll weevil in cotton producing properties in Luziânia, State of Goiás]	
Carvalho, A.A.; Pimenta, M.; Sousa, A.A.T.C.; Souza, L.M.; Sujii, E.R.; Pires, C.S.S.	063
042 - RESISTÊNCIA DE <i>Spodoptera frugiperda</i> EM CULTIVO DE MILHO Cry1F	
Macedo, C.; Martins, E.S.; Queiroz, P.R.M.; Praça, L.B.; Soares, C.M.S.; Santos, H.M.; Grisi, I.G.; Soberon, M.; Bravo, A.; Monnerat, R.G.	064

043 - SÍNTESE DO (E)- β -OCIMENO, UM DOS COMPONENTES DO FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DO *Alphitobius diaperinus* (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) [Synthesis of (E)- β -ocimene, one component of the aggregation pheromone of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae)]

Freitas, D.S.; Hassemer, M.J.; Oliveira, M.W.M.; Borges, M.; Laumann, R.A.; Blassoli-Moraes, M.C.065

044 - USO DO ACTH COMO ALTERNATIVA DE SUPLEMENTAÇÃO HORMONAL NA MATURAÇÃO IN VITRO DE OVÓCITOS BOVINOS [Alternative use of acth in hormone supplementation on *in vitro* maturation of bovine oocytes]

Leme, L.O.; Abreu, A.D.; Silva, L.P.; Dode, M.A.N.066

Recursos Microbianos

045 - AÇÃO ANTIFÚNGICA DE PEPTÍDEOS DERIVADOS DE OSMOTINA CONTRA *Fusarium* E *Colletotrichum* [Antifungal activity of Osmotin-encrypted peptides for *Fusarium* and *Colletotrichum*]

Moreira, R.F.; Rodrigues, M.A.R.; Falcão, L.L.; Silva-Werneck, J.O.; Bemquerer, M.P.; Marcellino, L.H.068

046 - A INFECÇÃO DE PLANTAS DE TOMATE PELO BEGOMOVÍRUS *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) AUMENTA A EXPRESSÃO DE GENES DA VIA DE UBIQUITINAÇÃO [Infection of tomato plants by the begomovirus *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) increases the expression of ubiquitination pathway genes]

Lacerda, A.L.M.; Fonseca, L.N.; Boiteux, L.S.; Brasileiro, A.C.M.; Ribeiro, S.G.069

047 - ANÁLISE DA SEQUÊNCIA DO GENE *p26* E SUA EVOLUÇÃO FILOGENÉTICA NA FAMÍLIA BACULOVIRIDAE [Sequence analysis of the *p26* gene and its phylogenetic evolution in the Baculoviridae family]

Craveiro, S.R.; Inglis, P.W.; Grynberg, P.; Togawa, R.C.; Ribeiro, Z.M.A.; Castro, M.E.B.070

048 - ANÁLISE FITOSSANITÁRIA DE SEMENTES DE MOGNO COLETADAS EM BRASÍLIA, DISTRITO FEDERAL [Plant health analysis of mahogany seeds collected in Brasília, Distrito Federal]

Castro, M.T.; Borges, R.C.F.; Montalvão, S.C.L.; Monnerat, R.G.071

049 - ANÁLISE PROTEÔMICA DA INTERAÇÃO *Brassica oleracea*-*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* UTILIZANDO O SISTEMA MALDI-BIOTYPER [Proteomic analysis of the interaction *Brassica oleracea*- *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* using the MALDI-Biotyper system]

Ribeiro, D.G.; Santos, C.; Silva, L.P.; Oliveira Neto, O.B.; Grossi-de-Sá, M.F.; Franco, O.L.; Mehta, A.072

050 - ATUALIZAÇÃO DO BANCO DE DADOS: "FUNGOS EM PLANTAS DO BRASIL" [Update of database: "Fungi plants in Brazil"]

Nascimento, F.B.; Urben, A.F.; Simon, M.F.; Palhares-Melo, L.A.M.; Mendes, M.A.S.073

051 - AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS IN VITRO POR <i>Bacillus thuringiensis</i> [Evaluation of the ability to promote plant growth <i>in vitro</i> by <i>Bacillus thuringiensis</i>]	
Caixeta, C.F.; Praça, L.B.; Monnerat, R.G.	074
052 - AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE PROTEÍNAS PARASPORINA DE ISOLADOS BRASILEIROS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> EM CÉLULAS DE CÂNCER [Evaluation of Parasporin proteins citotoxicity from brazilian strains of <i>Bacillus thuringiensis</i> against cancer cells]	
Sabiá Júnior, E.F.; Martins, E.S.; Corrêa, J.R.; Monnerat, R.G.	075
053 - AVALIAÇÃO DE ISOLADOS DE <i>Trichoderma</i> PARA CONTROLE BIOLÓGICO DO MOFO BRANCO DO FEIJOEIRO USANDO UMA ESCALA DE NOTAS [Evaluation of <i>Trichoderma</i> isolates for biological control of the <i>white mold</i> by a note scale]	
Santos, D.B.; Marques, E.; Martins, I.; Silva, J.B.T.; Menezes, J.E.; Mello, S.C.M. ...	076
054 - AVALIAÇÃO DE <i>Trichoderma</i> spp. NO BIOCONTROLE DO MOFO BRANCO DO FEIJOEIRO POR PARÂMETROS DE PRODUÇÃO [Evaluation of <i>Trichoderma</i> spp. for biocontrol of <i>white mold</i> of bean in base of production parameters]	
Santos, D.B.; Menezes, J.E.; Marques, E.; Martins, I.; Silva, J.B.T.; Mello, S.C.M. ...	077
055 - CARACTERIZAÇÃO DE <i>Sida micrantha mosaic virus</i> ISOLADO DE SOJA [Characterization of <i>Sida micrantha mosaic virus</i> isolated from soybean]	
Alves-Freitas, D.M.T.; Fusaro, A.; Lacorte, C.; Boiteux, L.S.; Ribeiro, S.G.	078
056 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BEGOMOVÍRUS INFECTANDO FEIJÃO E PLANTAS NÃO CULTIVADAS ASSOCIADAS À CULTURA DO FEIJOEIRO NO ESTADO DE PERNAMBUCO [Molecular characterization of begomovirus infecting beans and associated non-cultivated plants in the State of Pernambuco]	
Poppiel, R.R.; Matos, V.O.R.L.; Alves-Freitas, D.M.T.; Blawid, R.; Costa, A.F.; Ribeiro, S.G.	079
057 - COMPARAÇÃO DE DIFERENTES METODOLOGIAS PARA TESTES DE TRANSMISSÃO POR SEMENTE DO <i>Wheat streak mosaic virus</i> EM TRIGO [Comparison of different methodologies for seed transmission tests of <i>Wheat streak mosaic virus</i> in wheat]	
Botelho, S.R.A.; Sanches, M.M.; Fernandes, F.R.; Lau, D.	080
058 - DETECÇÃO DE GENES DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM <i>Bacillus thuringiensis</i> [Detection of plant growth promotion genes in <i>Bacillus thuringiensis</i> strains]	
Caixeta, C.F.; Sabiá Júnior, E.F.; Queiroz, P.R.M.; Martins, E.S.; Monnerat, R.G. ...	081
059 - DETECÇÃO ESPECÍFICA DE TRÊS BEGOMOVÍRUS EM FEIJOEIRO E PLANTAS DANINHAS NO ESTADO DE PERNAMBUCO [Specific detection of three begomovirus in bean and weed in the State of Pernambuco]	
Matos, V.O.R.L.; Alves-Freitas, D.M.T.; Lamas, N.S.; Ribeiro, S.G.	082

060 - EFEITO DE *Bacillus thuringiensis* NA COLONIZAÇÃO E AÇÃO ENDOFÍTICA PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E BIOCONTROLE [Effect of *Bacillus thuringiensis* in colonization and action endophytic for growth promotion and biocontrol]

Santana, F.; Praça, L.B.; Mendes, A.C.; Soares, C.M.S.; Monnerat, R.G.083

061 - ENVOLVIMENTO DO GENE *TMV RESPONSE RELATED-PROTEIN* NA DEFESA DO TOMATEIRO AO VÍRUS *Tomato chlorotic mottle virus* [Involvement of TMV response related-protein in the defense of tomato to *Tomato chlorotic mottle virus*]

Villeth, G.R.C.; Lacerda, A.L.M.; Lacorte, C.; Brasileiro, A.C.M.; Boiteux, L.S.; Ribeiro, S.G.084

062 - EXPRESSÃO DO GENE DE UMA ESFINGOMIELINASE DE *Trichoderma harzianum* EM *Nicotiana tabacum* L. E SEU EFEITO SOBRE FITOPATÓGENOS [Expression of a sphingomyelinase gene from *Trichoderma harzianum* in *Nicotiana tabacum* L. and its effect on plant pathogens]

Berbert, P.S.; Vieira, P.M.; Cabral, G.B.; Ulhoa, C.J.; Aragão, F.J.L.085

063 - IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS DE DEFESA EXPRESSAS DURANTE A INTERAÇÃO *Gossipium hirsutum*-*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* [Identification of defense proteins expressed during *Gossipium hirsutum*-*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* interaction]

Santos, I.R.; Rios, T.B.; Oliveira Neto, O.B.; Silva, L.P.; Mehta, A.086

064 - IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS NA INTERAÇÃO *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* – *Brassica oleracea* por 2D-nanoUPLC/MS^E [Identification of proteins involved in the *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*-*Brassica oleracea* interaction by 2D-nanoUPLC/MS^E]

Santos, C.; Ribeiro, D.R.; Carmo, L.S.T.; Labuto, L.B.D.; Oliveira Neto, O.B.; Murad, A.M.; Rech, E.L.; Franco, O.L.; Mehta, A.087

065 - IDENTIFICAÇÃO DE VÍRUS PATOGÊNICOS A LARVAS DE *Chrysodeixis includens* E *Helicoverpa armigera* [Identification of virus isolates pathogenic to *Chrysodeixis includens* and *Helicoverpa armigera* larvae]

Craveiro, S.R.; Moreira Filho, D.A.M.; Ribeiro, Z.M.A.; Gomes, A.C.M.M.; Ferreira, B.C.; Lima, A.A.; Soares, C.M.S.; Castro, M.E.B.088

066 - INTERCEPÇÃO DE "*Candidatus Phytoplasma solani*" NO BRASIL EM MATERIAL PROPAGATIVO DE MAÇÃ DA FRANÇA [Interception of "*Candidatus Phytoplasma solani*" in apple propagative material from France]

Barbosa, A.V.; Botelho, S.R.A.; Eckstein, B.; Oliveira, M.L.C.A.; Sanches, M.M.; Fernandes, F.R.089

067 - INTERCEPTAÇÃO DO *Wheat mosaic virus* (WMoV) NO BRASIL [Interception of *Wheat mosaic virus* (WMoV) in Brazil]

Duarte, M.F.; Botelho, S.R.A.; Barbosa, A.V.; Fernandes, F.R.; Sanches, M.M.090

068 - MEDIÇÃO DO TAMANHO DE POLIEDROS DE VARIANTES MP DO BACULOVÍRUS AgMNPV POR MICROSCOPIA DE VARREDURA [Measurement of the polyhedra size of AgMNPV baculovirus MP variants by Scanning Electron Microscopy]

Alcântara, L.T.A.; Sihler, W.; Falcão, R.; Faria, M.R.; Souza, M.L.091

069 - METAGENÔMICA VIRAL EM FEIJOEIROS E PLANTAS DANINHAS DO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL

Mota, A.P.Z.; Lamas, N.S.; Silva-Junior, O.B.; Costa, M.M.C.; Togawa, R.C.; Costa, A.F.; Melo, F.L.; Grynberg, P.; Ribeiro, S.G.092

070 - NANOPARTÍCULAS SINTETIZADAS COM EXTRATO DE COGUMELO *Pleurotus ostreatus* E SUA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA CONTRA *Escherichia coli* [Nanoparticles synthesized with mushroom extract of the species *Pleurotus ostreatus* and their possible antimicrobial activity against *Escherichia coli*]

Silva, A.B.; Silva, L.P.093

071 - OCORRÊNCIA NATURAL DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL PARASITANDO LAGARTA DE *Hypsipyla grandella* ZELLER (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EM BRASÍLIA, DISTRITO FEDERAL [Natural occurrence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill parasitizing caterpillar of *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) in Brasília, Distrito Federal]

Castro, M.T.; Silva, S.D.; Montalvão, S.C.L.; Monnerat, R.G.094

072 - OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA A AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM COGUMELOS [Optimization and validation of voltammetric method for the evaluation of antioxidant capacity and determination of phenolic compounds in mushrooms]

Cavalcante, R.S.; Magarelli, G.; Castro, C.S.P.; Urban, A.F.095

073 - PATOGENICIDADE DE UM ISOLADO DE *Fusarium* EM SEMENTES E MUDAS DE MOGNO (*Swietenia macrophylla* KING) [Pathogenicity of a *Fusarium* strain in seeds and seedlings of mahogany (*Swietenia macrophylla* King)]

Castro, M.T.; Borges, R.C.F.; Montalvão, S.C.L.; Monnerat, R.G.096

074 - PRIMEIRO RELATO DE *Phomopsis* sp. EM FOLHAS DE MOGNO NO BRASIL [First report of *Phomopsis* sp. on mahogany in Brazil]

Castro, M.T.; Borges, R.C.F.; Montalvão, S.C.L.; Eckstein, B.; Monnerat, R.G.097

075 - SEQUENCIAMENTO DO GENOMA DE DOIS POTEXVÍRUS QUE INFECTAM PALMA (*Opuntia cochenillifera*) [Genome sequencing of two Potexvirus infecting Princkly pear (*Opuntia cochenillifera*)]

Sanches, M.M.; Lamas, N.S.; Alves-Freitas, D.M.T.; Reis, M.; Arieta-Sousa, J.; Romano, E.; Melo, F.L.; Ribeiro, S.G.098

Recursos Vegetais

076 - ANÁLISE DA ATIVIDADE DAS REGIÕES PROMOTORAS DOS GENES *BbrizRPS15a* E *BbrizRPL41* DE *Brachiaria brizantha* EM *Arabidopsis thaliana* [Analysis of the activity of the promoter region of genes *BbrizRPS15a* and *BbrizRPL41* of *Brachiaria brizantha* in *Arabidopsis thaliana*]

Morais, D.P.; Pereira, J.A.; Florentino, L.H.; Lacerda, A.L.M.; Dusi, D.M.A.; Carneiro, V.T.C.100

077 - ANÁLISE DA SUPEREXPRESSÃO DO GENE EXPANSINA *LIKE-B* DE *Arachis duranensis* EM PLANTAS TRANSGÊNICAS DE *Arabidopsis thaliana* SUBMETIDAS A DÉFICIT HÍDRICO [Analysis of *Arachis duranensis* Expansin *like-B* overexpression on *Arabidopsis thaliana* transgenic plants under water deficit]

Silva, A.K.; Williams, C.C.V.; Guimarães, L.A.; Colombo, C.A.; Araújo, A.C.G.; Guimarães, P.M.; Brasileiro, A.C.M.101

078 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE LINHAGENS DE MELÃO UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES [Genetic variability analysis of melon lines using molecular markers]

Carvalho, N.; Canela, F.M.; Ferreira, M.A.; Buso, G.S.C.102

079 - ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA QUANTITATIVA E IN SITU DE *BbrizGID1* EM PLANTAS APOMÍTICAS E SEXUAIS [Quantitative and *in situ* analyses of *BbrizGID1* gene expression in sexual and apomictic plants]

Ferreira, L.G.; Irsigler, A.S.T.; Rodrigues, J.C.M.; Florentino, L.H.; Gomes, A.C.M.M.; Dusi, D.M.A.; Carneiro, V.T.C.103

080 - ANÁLISE FUNCIONAL DA REGIÃO PROMOTORA DE HAPLÓTIPOS DO GENE *CcDREB1D* DE *Coffea canephora* VIA TRANSFORMAÇÃO DE *Nicotiana tabacum* [Functional analysis of the promoter region of haplotypes from *CcDREB1D* gene of *Coffea canephora* via transformation in *Nicotiana tabacum*]

Aquino, S.O.; Carneiro, F.A.; Rego, E.C.S.; Duarte, K.E.; Alves, G.S.C.; Marraccini, P.; Andrade, A.C.104

081 - ANÁLISE FUNCIONAL DO GENE ÓRFÃO *CcUNK8* DE *Coffea canephora* VIA TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE *Setaria viridis* [Functional analysis of the orphan gene *CcUNK8* of *Coffea canephora* via genetic transformation in *Setaria viridis*]

Duarte, K.E.; Vieira, N.G.; Rêgo, E.C.S.; Martins, P.K.; Ribeiro, A.P.; Cunha, B.A.B.D.; Molinari, H.B.C.; Kobayashi, A.K.; Sousa, C.A.F.; Marraccini, P.; Andrade, A.C.105

082 - AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE RESVERATROL EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Arachis* [Resveratrol production evaluation within *Arachis* species]

Carvalho, P.A.S.V.; Agostini-Costa, T.S.; Gimenes, M.G.106

083 - AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE SECAGEM DE SEMENTES DE CEVADA (*Hordeum vulgare* L.) PARA FINS DE CONSERVAÇÃO [Evaluation of drying methods of barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds to conservation purposes]

Almeida, F.F.; Soares, F.M.; Pádua, J.G.107

084 - CARACTERIZAÇÃO DE PLANTAS DE FUMO EXPRESSANDO CONSTITUTIVAMENTE UM GENE PÓLEN-ESPECÍFICO DE *Ricinus communis* [Characterization of tobacco plants constitutively expressing a pollen-specific gene from *Ricinus communis*]

Rego, T.F.C.; Cabral, G.B.; Cipriano, T.M.; Aragão, F.J.L.108

085 - CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DE UMA PR1 DE CUPUAÇUZEIRO INFECTADO COM *Moniliophthora perniciosa* [Characterization and gene expression analysis of a PR1 from cupuassu infected with *Moniliophthora perniciosa*]

Santana, R.J.S.; Falcão, L.L.; Gramacho, K.P.; Albuquerque, P.S.B.; Alves, R.M.; Micheli, F.; Marcellino, L.H.109

086 - CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE UMA POPULAÇÃO DE *Coffea canephora* CONILON VISANDO UM PROGRAMA DE SELEÇÃO GENÔMICA AMPLA (SGA) EM CAFEEIRO [Molecular and phenotypic characterization of a *Coffea canephora* conilon population aiming at a Genome Wide Section Program (GWS) in coffee]

Carneiro, F.A.; Rêgo, E.C.S.; Aquino, S.O.; Costa, T.S.; Lima, E.A.; Rocha, O.C.; Rodrigues, G.C.; Carvalho, M.A.F.; Marraccini, P.; Grattapaglia, D.; Bartholo, G.F.; Guerra, A.F.; Andrade, A.C.110

087 - CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DOS DIFERENTES MÓDULOS DE UM PROMOTOR DE ALGODÃO EM *Arabidopsis thaliana* [Functional characterization of the different modules of a cotton promoter in *Arabidopsis thaliana*]

Lins, P.; Lourenço, I.T.; Grossi-de-Sá, M.F.111

088 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA RESPOSTA DE RESISTÊNCIA DE *Coffea canephora* 'CLONE 14' INFECTADO COM *Meloidogyne paranaensis* [Molecular characterization of the molecular responses of *Coffea canephora* clone 14 upon infection with *Meloidogyne paranaensis*]

Lima, E.A.; Carneiro, F.A.; Costa, T.S.; Rêgo, E.C.S.; Jorge Júnior, A.; Furlaneto, C.; Marraccini, P.; Carneiro, R.M.D.G.; Andrade, A.C.112

089 - CATÁLOGO DE VARIEDADES DE FAVA (*Phaseolus lunatus* L.): FERRAMENTA DE DIÁLOGO DO BANCO ATIVO PARA AÇÕES DE INTRODUÇÃO E REINTRODUÇÃO DE GERMOPLASMA EM COMUNIDADES TRADICIONAIS [Catalogue of varieties of Fava (*Phaseolus lunatus* L.): of active bank dialogue tool for the actions of introduction and reintroduction of germplasm in traditional communities]

Moraes, C.S.; Dilly, J.L.; DIAS, T.A.B.; Burle, M.L.113

090 - CLONAGEM DO PROMOTOR DE UM GENE RESPONSIVO À SECA ISOLADO DE MILHETO (*Pennisetum glaucum*) PARA ANÁLISE EM PLANTAS TRANSGÊNICAS [Cloning of the promoter of a drought responsive gene isolated from pearl millet (*Pennisetum glaucum*) for analysis in transgenic plants]

Quintanilha, M.V.T.; Silva-Werneck, J.O.; Almeida, J.D.; Barros, L.M.G.; Falcão, L.L.; Marcellino, L.H.114

091 - EFEITOS DA SENESCÊNCIA CELULAR VEGETAL NA SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO COMO MODELO O EXTRATO AQUOSO DE *Annona muricata* [Role of plant senescence in the green synthesis of silver nanoparticles using *Annona muricata* leaf extract]

Ávidos, F.D.; Bonatto, C.C.; Silva, L.P.115

092 - ENGENHARIA GENÉTICA PARA PRODUÇÃO DE ÔMEGA-3 EM ALFACE [Genetic engineering to produce omega-3 in lettuce]

Pierdoná, H.L.; Citadin, C.T.; Cabral, G.B.; Aragão, F.J.L.116

093 - ENGENHARIA METABÓLICA DE SOJA E EDIÇÃO DE GENOMA DE GENES ASSOCIADOS A ÁCIDOS GRAXOS [Metabolic and genomic engineering of genes associated with polyunsaturated acids]

Alves, D.T.; Coelho, M.C.; Murad, A.M.; Cunha, N.B.; Viana, G.V.; Coelho, C.M.; Rech, E.L.117

094 - ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* E A PRODUÇÃO DO ANTIOXIDANTE RESVERATROL

Carvalho, P.A.S.V.; Brasileiro, A.C.M.; Leal-Bertioli, S.C.; Silva, J.P.; Agostini-Costa, T.S.; Gimenes, M.A.118

095 - ESTUDO DA EXPRESSÃO DA EXPANSINA, DEHIDRINA E LIPOCALINA POR HIBRIDIZAÇÃO IN SITU EM RAÍZES DE ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* EM RESPOSTA À SECA E INFECÇÃO POR NEMATÓIDES [Studies of expansin, dehydrin and lipocalin expression via *in situ* hybridization in roots of wild *Arachis* species in response to drought and nematode infection]

Cunha, G.C.R.; Guimarães, L.A.; Silva, M.S.; Videira, C.; Bispo, R.; Brasileiro, A.C.M.; Willians, C.C.V.; Guimarães, P.M.; Araújo, A.C.G.119

096 - ESTUDO DOS GENOMAS A E B DE *Arachis* [Study of A and B genomes from *Arachis*]

Vidigal, B.S.; Araújo, A.C.G.; Bertioli, D.J.; Guimarães, P.M.; Nascimento, E.F.M.B.120

097 - EXPRESSÃO HETERÓLOGA DA CP-THIONINA II EM *Nicotiana* sp. VISANDO À PROTEÇÃO CONTRA BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS [Heterologous expression of Cp-thionina II in *Nicotiana* sp. aiming to protect plant pathogenic bacteria]

Carrijo, J.; Cunha, N.B.; Murad, A.M.; Dias, S.C.; Lacorte, C.121

098 - IMPORTÂNCIA DA GESTÃO AMBIENTAL PARA A CONSERVAÇÃO DA AGROBIODIVERSIDADE NA ÁREA INDÍGENA KRAHÔ

Castro, L.R.; Dias, T.A.B.122

099 - INDUÇÃO DE EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA EM SEMENTES MADURAS DAS CULTIVARES TANZÂNIA E MOMBAÇA DE *Panicum maximum* [Induction of somatic embryogenesis in mature seeds of *Panicum maximum* cultivars Tanzânia and Mombaça]

Pereira, J.A.; Moraes, D.P.; Cabral, G.B.; Jank, L.; Dusi, D.M.A.; Carneiro, V.T.C. ...123

100 - INTRODUÇÃO E EXPRESSÃO DO GENE DA ARCELINA DO FEIJÃO COMUM (*Phaseolus vulgaris* L.) EM FEIJÃO-CAUPI [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] PARA RESISTÊNCIA AO CARUNCHO *Zabrotes subfasciatus* [Introduction and expression of Arcelin gene of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] for resistance to weevil *Zabrotes subfasciatus*]

Duarte, M.A.G.; Aragão, F.J.L.; Cabral, G.B.124

101 - MECANISMO MOLECULAR DE RESPOSTA À SECA MEDIADA POR ABA EM CLONES DE *Coffea canephora* [Molecular mechanism of ABA mediated responses to drought in *Coffea canephora* clones]

Cotta, M.G.; Marraccini, P.; Bocs, S.; Rego, E.C.S.; Aquino, S.O.; Carneiro, F.A.; Costa, T.S.; This, D.; Andrade, A.C.125

102 - OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA DE GC/MS ACOPLADA A “HEADSPACE” ESTÁTICO PARA DISCRIMINAR E IDENTIFICAR COMPOSTOS VOLÁTEIS DE PLANTAS TÓXICAS BRASILEIRAS [Optimization of a GC/MS coupled to static headspace technique for discriminate and identify volatile compounds from toxic Brazilian plants]

Rocha, M.R.; Murray, G.; Grossi-de-Sá, M.F.; Rocha, T.L.; Polez, V.L.126

103 - OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLO PARA PRODUÇÃO DE PLANTAS COMPOSTAS DE UMA CULTIVAR BRASILEIRA DE AMENDOIM MEDIADO POR TRANSFORMAÇÃO COM *Agrobacterium rhizogenes* [Optimization protocol for production of composite plants of a Brazilian cultivate of peanut mediated by *Agrobacterium rhizogenes*]

Martins, A.C.Q.; Oliveira, T.N.; Guimarães, L.A.; Brasileiro, A.C.M.; Guimarães, P.M.
.....127

104 - PERFIL DE EXPRESSÃO DE GENES CANDIDATOS EM GENÓTIPOS CONTRASTANTES DE *Arachis* DURANTE INFECÇÃO COM *Meloidogyne arenaria*

Oliveira, T.N.; Guimarães, L.A.; Martins, A.C.Q.; Morgante, C.V.; Guimarães, P.M.; Brasileiro, A.C.M.128

105 - PRODUÇÃO DE PLANTAS TRANSGÊNICAS DE TOMATEIRO COM TOLERÂNCIA AO HERBICIDA CONTAIN® [Production of transgenic tomato plants with tolerance to the herbicide Contain®]

Silva, S.B.; Carrijo, J.; Lacorte, C.129

106 - PROLINA COMO UMA MEDIDA DE ESTRESSE NAS PLÂNTULAS IN VITRO CAUSADO POR TEMPERATURA BAIXA E SORBITOL NO MEIO DE CULTURA [Proline as a measure of stress on *in vitro* plantlets caused by low temperature and sorbitol in culture medium]

Lemos, F.O.; Luz, T.C.L.A.; Matsumoto, K.130

107 - PROSPECÇÃO E AVALIAÇÃO DE EXTRATOS OBTIDOS A PARTIR DE PLANTAS DA FAMÍLIA SOLANACEAE VISANDO AO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* [Prospection and evaluation of extracts obtained from Solanaceae plants aiming to control *Meloidogyne incognita*]

Silverio, B.C.; Soll, C.B.; Costa, T.G.; Polez, V.L.P.; Rocha, T.L.131

108 - REGENERAÇÃO E TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE CALOS EMBRIOGÊNICOS DE *Elaeis* spp. (DENDÊ) [Regeneration and genetic transformation of embryogenic calli from *Elaeis* spp. (palm oil)]

Maia, F.C.O.; Andrade, C.M.; Cabral, G.B.; Aragão, F.J.L.132

109 - REVISÃO CITOTAXONÔMICA DO GÊNERO *Axonopus*, SÉRIE *Axonopus* (POACEAE) DOS BIOMAS PAMPA, PANTANAL E MATA ATLÂNTICA [Cytotaxonomic review of *Axonopus*, series *Axonopus* (Poaceae) from the Pampa, Pantanal and Atlantic Forest Biomes]

Silveira, A.D.; Pozzobon, M.T.; Santos, S.; Custodio, A.R.; Valls, J.F.M.133

110 - SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PRODUZIDAS POR SÍNTESE VERDE A PARTIR DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE SUCUPIRA BRANCA (*Pterodon emarginatus*) [Synthesis and characterization of silver nanoparticles produced by green synthesis from extracts of white sucupira leaves (*Pterodon emarginatus*)]

Oliveira, G.Z.S.; Lopes, C.A.P.; Silva, L.P.134

111 - SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE *Caryocar brasiliensis* [Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Caryocar brasiliensis* leaves]

Bonatto, C.C.; Reis, I.G.; Marina, C.L.F.; Ramada, M.H.S.; Abrão, F.Y.; Soll, C.B.; Polez, V.L.P.; Silva, L.P.135

112 - TESTES DE VIGOR PARA DETECÇÃO DE NÍVEIS PRECOSES DE DETERIORAÇÃO EM BANCO DE SEMENTES [Vigor test for early detection of deterioration levels in seed bank]

Braga, J.S.; Solange, C.B.R.J.; Pádua, J.G.; Queiroz, A.P.136

113 - VIABILIDADE POLÍNICA EM ACESSOS DE *Mesosetum* STEUD. (POACEAE) [Pollen viability in accessions of *Mesosetum* Steud. (Poaceae)]

Ribeiro, A.R.O.; Cardoso, A.G.T.; Guimarães, R.M.G.; Oliveira, R.C.; Valls, J.F.M.; Pozzobon, M.T.137

Outros

114 - DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOESTRUTURAS CONTENDO ACETATO DE RETINOL, UM PRECURSOR DA VITAMINA A [Development and characterization of nanostructures containing retinol acetate, a vitamin A precursor]

Silva, A.B.; Silva, L.P.139

115 - OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLO PARA AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS [Protocol optimization for evaluation of cytotoxicity of metal nanoparticles]

Reis, I.G.; Bonatto, C.C.; Marina, C.L.F.; Soll, C.B.; Polez, V.L.P.; Silva, L.P.140

116 - PRIMEIRO LABORATÓRIO BRASILEIRO ACREDITADO PELO INMETRO PARA AVALIAÇÃO DE EFICÁCIA DE PRODUTOS BIOLÓGICOS [First Brazilian laboratory accredited by Inmetro for evaluating efficacy of biological products]

Posso, M.C.; Praça, L.B.; Martins, E.S.; Macedo, C.L.; Grisi, I.G.; Castro, C.S.P.; Frazão, H.; Lima, L.H.C.; Ventura, M.; Amaral, Z.P.; Santana, E.; Monnerat, R.G. ...141

ÍNDICE DE AUTORES142

ÍNDICE DE ORIENTADORES149

ÍNDICE DE INSTITUIÇÕES150

Recursos Animais

001 - ABUNDÂNCIA E DIVERSIDADE DE ABELHAS CAPTURADAS COM ARMADILHA MALAISE EM CAMPOS DE ALGODOEIRO LOCALIZADOS EM PEQUENAS PROPRIEDADES RURAIS NO ESTADO DE GOIÁS [Abundance and diversity of bees captured with malaise trap in cotton fields of small rurals properties in the State of Goiás]

Rossi, M.B.¹; Torezani, K.R.S.²; Aguiar, A.J.C.³; Pires, C.S.S.⁴

As abelhas possuem uma grande importância como polinizadores de várias culturas agrícolas e também de espécies nativas. Elas são responsáveis pela formação e melhor qualidade de frutos e sementes, proporcionando assim, maior variabilidade genética. Com a diminuição das abelhas, haveria conseqüentemente uma queda nas produções agrícolas, na qualidade e número de sementes e frutos produzidos. Nesse contexto, o monitoramento das populações de abelhas torna-se necessário, para a obtenção de informações sobre a variação sazonal; abundância e diversidade destes insetos em diferentes localidades. O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência da armadilha malaise na coleta de abelhas. As coletas foram realizadas semanalmente (durante o período de floração do algodoeiro) entre maio de 2010 a junho de 2012 em Goiás, nos municípios de Mundo Novo e Vale do Bijuí. Duas armadilhas malaise foram instaladas em cada propriedade, sendo uma dentro da cultura do algodoeiro e outra em uma área de vegetação natural próxima ao plantio (bioma Cerrado). Foram coletadas 902 abelhas, distribuídas em 45 gêneros e 66 espécies. A espécie mais abundante foi *Paratrigona lineata* (n=221), seguida de *Partamona* sp. (n=97) e *Tetragona* sp.2 (n=88). A maioria das espécies coletadas foi representada por apenas um indivíduo (3,99 %). Os dados sugerem que a armadilha malaise pode ser considerada um método eficaz para coleta de abelhas, obtendo uma boa eficiência tanto quanto métodos mais tradicionais, como: pratos coloridos (pan trap), rede entomológica e coleta direta na flor do algodoeiro. Sendo muito utilizada na coleta diversas famílias de himenópteros, entre eles, Ichneumonidae e Encyrtidae, como tem sido mostrado em estudos de diversidade de famílias parasitóides. Contudo, é importante ressaltar que uma metodologia complementa a outra, e deste modo, os resultados obtidos tendem a se aproximar cada vez mais da realidade, quando os métodos são usados em conjunto.

Apoio: Cenargen e UnB.

¹ Biologia, graduação, Universidade de Vila Velha-UVV

² Zoologia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁴ Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

002 - ÁCAROS PREDADORES E SUA ASSOCIAÇÃO COM PLANTAS DANINHAS NO SISTEMA SUCESSIONAL SOJA E FEIJÃO-CAUPI [Predatory mites and its association with weeds in the soybean-yardlong bean successional system]

Nery, R.S.¹; Ferragut, F.²; Navia, D.³; Querino da Silva, R.B.⁴; Vivian, R.⁵

O controle de pragas demanda muita energia na produção agrícola. Muitas plantas daninhas hospedeiras de inimigos naturais são eliminadas, assim como muitos agentes de controle biológico são suprimidos pelo uso incorreto de agrotóxicos. A melhoria dos sistemas agrícolas está condicionada ao aumento da rentabilidade e à sua sustentabilidade. Entre os sistemas pouco estudados está a sucessão das culturas de soja e feijão-caupi que ocupa amplas áreas nas regiões Centro-Oeste e Nordeste do Brasil. Os ácaros predadores representam importantes agentes de controle biológico, controlando populações de pragas (outros ácaros e pequenos insetos). Esse trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência e identificar os ácaros predadores associados aos cultivos de soja e feijão-caupi, bem como às plantas daninhas, em sistema sucessional. Para isso foram realizados levantamentos de ácaros predadores em duas áreas do Piauí e do Maranhão, em 2012. Os ácaros foram coletados através de exame direto e do método de lavagem, e preservados em lâminas de microscopia. A identificação foi realizada ao microscópio de contraste de fase e de DIC (Nikon, eclipse 80i). Ao total foram coletados 4293 ácaros predadores, pertencentes às famílias Blattisociidae (3610) e Phytoseiidae (683). Em Blattisociidae foram identificadas três espécies, sendo a predominante *Aceodromus convolvuli* Muma (3607 indivíduos), a qual foi coletada em soja (2463), em feijão caupi (235) e nas plantas daninhas (909). Em Phytoseiidae foram identificadas 15 espécies, pertencentes aos gêneros *Neoseiulus*, *Euseius*, *Ricoseius*, *Amblyseius*, *Amblydromalus*, *Typhlodromalus*, *Proprioseiopsis*, *Arrenoseius*, e *Typhlodromus*. O maior número de espécies de fitoseídeos foi coletado na soja (13), enquanto que o maior número de indivíduos foi coletado nas plantas daninhas (47%). Entre as 18 espécies de predadores coletadas, nove foram comuns às plantas daninhas e a um ou ambos cultivos. Os resultados preliminares sugerem que as plantas daninhas abrigam ácaros predadores que podem ter um importante papel no controle de ácaros e insetos nas culturas de soja e de feijão-caupi. Esses dados representam um ponto de partida para avaliar as interações ecológicas no sistema e subsidiar medidas no manejo integrado de pragas.

Apoio: CNPq.

¹ Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Biologia, Ph.D., Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, Espanha

³ Entomologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Agronomia, Ph.D., Embrapa Meio Norte

⁵ Agronomia, Ph.D., Embrapa Produtos e Mercados

003 - ACERVO DA COLEÇÃO ENTOMOLÓGICA DE TRABALHO DA EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA INSERIDA NO LABORATÓRIO DE ECOLOGIA E BIOSSEGURANÇA [Entomological work collection of Embrapa Genetic Resources and Biotechnology - Ecology and Bio-Security laboratory]

Rossi, M.B.¹; Souza, L.M.²; Torezani, K.R.S.³; Pires, C.S.S.⁴; Sujii, E.R.⁴

A Coleção Entomológica de trabalho da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, mantida no Laboratório de Ecologia e Biossegurança (LEB), representa um relevante acervo biológico, resultado de diferentes projetos de pesquisa científica conduzidos pela equipe do laboratório. Grande parte da atual coleção foi alimentada por dois projetos: “Agrobiodiversidade”, como provedora de serviços ecológicos para sustentabilidade de sistemas agrícolas de produção e a “Rede de pesquisa sobre polinizadores dos algodoeiros no Brasil”. Em relação ao projeto “Agrobiodiversidade”, os insetos amostrados foram provenientes de coletas diretas sobre as plantas com esforço amostral de 702 horas, e do tipo malaise com montagem de 17 armadilhas. As armadilhas malaise foram dispostas quinzenalmente pelo período de dois dias, durante 14 meses em quatro propriedades orgânicas em diferentes níveis de transição agroecológica no Distrito Federal. No projeto sobre polinizadores foram realizadas coletas em Goiás utilizando rede entomológica, armadilhas malaise e pratos coloridos, para inventariar as espécies de abelhas nas áreas de vegetação que ficam no entorno dos plantios convencionais e orgânicos de algodão. O presente trabalho pretende divulgar a importância do acervo e a diversidade de insetos depositada nessa Coleção Entomológica da Embrapa. A coleção conta com um acervo preservado por desidratação e acondicionado em dois armários de madeira com 158 gavetas cada, sob temperatura e umidade controladas. Além disso, há uma sala de apoio onde é realizada a triagem dos insetos, montagem e conservação da coleção em via líquida (álcool 70%). Na coleta direta do projeto “Agrobiodiversidade” foram amostrados 16.788 insetos pertencentes a 11 ordens, 121 famílias e 807 morfoespécies. As ordens Coleoptera, Hemiptera, Diptera e Hymenoptera foram as mais abundantes com 29,88%, 28,09%, 25% e 8,74% do total, respectivamente. Nas armadilhas malaise foram coletados 65.618 insetos pertencentes a 17 ordens, 140 famílias e 1691 morfoespécies. As ordens Diptera, Hemiptera, Coleoptera e Lepidoptera foram as mais abundantes com 40,24%, 22,02%, 11,69% e 10,89% do total, respectivamente. No projeto sobre polinizadores, foram amostrados 5.283 indivíduos e 182 espécies pertencentes às famílias Andrenidae, Apidae, Colletidae, Halictidae e Megachilidae em todas as metodologias de coleta. O acervo entomológico está disponível para comparação de exemplares e estudos taxonômicos e ecológicos.

Apoio: Cenargen.

¹ Biologia, graduação, Universidade de Vila Velha-UVV

² Entomologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Zoologia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

⁴ Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

004 - A CRIOPRESERVAÇÃO AFETA A LIGAÇÃO DE ESPERMATOZÓIDES DO EPIDÍDIMO DE TOUROS ÀS CÉLULAS DO OVIDUTO [Cryopreservation affects binding of bovine epididymis sperm to oviduct explants]

Cunha, A.T.M.¹; Carvalho, J.O.²; Kussano, N.R.³; Dode, M.A.N.⁴

A utilização de espermatozóides do epidídimo nas biotécnicas da reprodução tem um papel importante na multiplicação de material genético de touros que morrem subitamente ou com doenças adquiridas que afetam a capacidade reprodutiva. Um melhor conhecimento sobre o comportamento fisiológico desses espermatozóides é necessário para otimizar a sua utilização. Um dos eventos necessários para a fecundação *in vivo* é a formação do reservatório no oviduto. Estudos em nosso laboratório constataram que espermatozóides epididimários possuem a mesma capacidade de ligar-se *in vitro* às células do istmo, quando comparados aos do ejaculado. Considerando que a criopreservação é responsável por uma série de alterações no espermatozóide, essas alterações podem influenciar diretamente a formação do reservatório. O objetivo do estudo foi avaliar a influência da criopreservação na capacidade dos espermatozóides do epidídimo se ligarem às células do istmo. Foram utilizados testículos de quatro touros *Bos Indicus*. Os espermatozóides foram recuperados dos epidídimos de cada animal e foram divididos em duas frações, a de espermatozóides frescos (EF), que foram utilizados no momento que foram recuperados, e a outra fração de espermatozóides foi criopreservada (EC). Os espermatozóides de cada grupo foram co-incubados com agregados de células do oviduto (ACO) pelo período de 30 minutos, 6 e 24 horas. A cada momento, foram utilizados cerca de 60 ACO por grupo/hora. Imagens de cada ACO co-incubados com espermatozóides foram capturadas. O perímetro de cada ACO e o número de espermatozóides ligados foram determinados, e o número de espermatozóides ligados por mm de cada ACO foi calculado. Uma réplica por touro/grupo foi realizada. Os dados foram analisados pelo *software* Sigma Stat 3.11 (Systat Software, Inc., Richmond, California, USA), comparados pelo teste de Tukey (média \pm DP, $P < 0,1$). O grupo EF apresentou maior ($P=0,06$) número de células ligadas aos 30 minutos de incubação ($127,2 \pm 44,6$) do que o grupo EC ($75,6 \pm 5,3$). Às 6 horas de incubação não houve diferença entre o grupo EF ($46,3 \pm 20,1$) e EC ($61,6 \pm 46,1$). Porém, às 24 horas de incubação o grupo EF mostrou maior capacidade ($p=0,01$) de ligação aos ACO ($93,3 \pm 38,4$) em relação ao grupo EC ($20,3 \pm 23,3$). Importante ressaltar que no grupo EF às 6 horas, a quantidade de espermatozóides ligados foi inferior ao encontrado às 24 horas, enquanto no grupo EC essa diminuição foi constante durante todo o período. Conclui-se que a criopreservação de espermatozóides do epidídimo afeta sua ligação às células do oviduto, causando drástica redução no número de espermatozóides ligados no período de 24 horas pós-descongelamento.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Medicina Veterinária, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Medicina Veterinária, doutorado, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-ESALQ/USP

³ Medicina Veterinária, mestrado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

⁴ Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

005 - ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Spodoptera frugiperda* J.E. SMITH (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) COLETADAS EM LAVOURAS DE *Zea mays* E *Gossypium hirsutum* L. [Analysis of genetic diversity of *Spodoptera frugiperda* populations collected in *Zea mays* and *Gossypium hirsutum* cultures]

Bernardes, F.G.¹; Ferreira, B.C.²; Lima, A.A.²; Queiroz, P.R.M.³; Martins, E.S.³; Monnerat, R.G.⁴

Spodoptera frugiperda é um inseto-praga pertencente à ordem Lepidoptera, uma das principais pragas do milho no Brasil e tem atacado culturas de algodão trazendo sérios prejuízos. Apresenta algumas características que dificultam o seu controle tais como alto potencial reprodutivo, ciclo biológico curto, polifagia e hábito críptico. Sua variabilidade genética está associada ao seu comportamento alimentar e localização geográfica. As diferentes linhagens de *S. frugiperda* podem ser identificadas através da amplificação de DNA por PCR. Esse trabalho teve como objetivo analisar a variabilidade genética de populações de *S. frugiperda* coletadas em diferentes regiões dos estados do Mato Grosso (MT), Bahia (BA) e Goiás (GO), em lavouras de milho e algodão. Dez larvas de *S. frugiperda* das 18 populações em estudo foram submetidas à extração de DNA genômico por ciclos de fenol:clorofórmio:álcool isoamílico e a amplificações por PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Para essa técnica, foram selecionados dois genes: um gene marcador mitocondrial, *NADH-dehydrogenase* (*ND-1*), e um gene ribossomal 16S usado como controle positivo. O resultado das reações de PCR com o gene *ND-1* resultou em um fragmento esperado de 600pb para todas as amostras amplificadas. As amplificações com os *primers* para o gene 16S foram positivas em todas as amostras mostrando que os DNAs estavam íntegros. As populações demonstraram ter uma variabilidade de haplótipos para o gene *ND-1*, uma vez que houve amplificação do fragmento esperado para a maioria dos indivíduos. Uma população de milho pertencente à região de Cabeceiras (GO) (Sf 8) não amplificou nenhum indivíduo com *primers* para *ND-1*. Esses resultados podem indicar mistura de haplótipos em ambas as culturas de milho e algodão. A caracterização e detecção das diferenças genéticas em populações de insetos são importantes para auxiliar na prática do manejo da praga, como também conhecer e prever o comportamento das mesmas no campo.

Apoio: Cenargen, CNPq/UnB e IMAmt.

¹ Biologia Molecular, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

³ Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

⁴ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

006 - ANÁLISE EM NANOESCALA DE FIBRAS SINTÉTICAS DE TEIA DA ARANHA *Parawixia bistriata* [Nanoscale analyses of *Parawixia bistriata* synthetic spider silk fibers]

Michalczechen-Lacerda, V.A.¹; Vianna, G.R.²; Murad, A.M.³; Silva, L.P.⁴; Rech, E.L.²

As fibras de teia de aranha são polímeros com características únicas e, com os avanços da engenharia genética, é possível produzir fibras sintéticas a partir de proteínas recombinantes em sistemas heterólogos. Os domínios repetitivos são arranjos de blocos em copolímeros, onde as sequências de aminoácidos podem resultar num biomaterial. O presente estudo concentrou-se na produção de fibras sintéticas a partir de proteínas do tipo MaSp2(16x) da aranha *P. bistriata*. A proteína liofilizada foi diluída à 20 % (m/V) em 5% de ácido fórmico e 95% de HFIP, e aquecida à 70 °C por 10 min. A extrusão ocorreu com uma bomba de seringa e um banho de coagulação contendo isopropanol absoluto. A fibra foi coletada, seca e cortada em fragmentos de 1 cm. Um grupo (n=10) recebeu o tratamento de hidratação (imersas em isopropanol 80 %) e estiradas para tamanho final de 2 cm, e o outro grupo não recebeu o tratamento (n=10). As fibras foram mantidas em dessecador até ocorrerem as análises por microscopia de força atômica (MFA) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram adquiridas 3 imagens de MFA e MEV para avaliar a topografia e, 5 pontos para as análises de espectroscopia de força para cada fibra. Os resultados foram submetidos ao teste *t* utilizando o programa Assistat 7.7 Beta. Percebeu-se que as fibras apresentam uma topografia não homogênea (MFA) e houve uma diminuição dos valores em Ra (média aritmética) e Rq (média da raiz quadrada) para rugosidade e em Rv (vale mais profundo) no grupo tratado, $P<0.05$. Não houve diferença para os valores de Rz (altura máxima), Rzjis (média de 10 pontos para rugosidade-5 picos mais altos e 5 vales mais profundos), Rp (distância do pico mais alto ao vale mais profundo) entre os grupos. Além disso, observou-se uma diminuição do diâmetro das fibras para o grupo tratado, mas todas elas apresentam a morfologia lisa (MEV). As análises por espectroscopia de força mostraram que houve um aumento da força atrativa entre a superfície da fibra com a ponteira para o grupo tratado ($P<0.01$), mas não houve diferença para o desprendimento da ponteira, módulo de Young, força máxima aplicada e energia dissipada entre os grupos avaliados. Sabe-se que após a extrusão, as fibras sintéticas ainda não terminaram de se formar, e a hidratação e o estiramento são passos importantes para o produto final. O estudo realizado obteve sucesso na formação da fibra com a proteína alvo, e os tratamentos após a extrusão são de extrema importância para a formação de uma fibra com melhor qualidade, segundo os parâmetros utilizados. Esse biomaterial tem aplicação em engenharia de tecidos e na indústria de materiais.

¹ Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Biotecnologia e Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Ciência da Computação, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

007 - ANÁLISE FUNCIONAL DE NEUROPEPTÍDEOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DE *Anthonomus grandis*

Leite, A.G.B.¹; Firmino, A.A.P.³; Antonino-de-Souza Junior, J.D.²; Coelho, R.R.²; Grossi-de-Sá, M.F.²

O algodão é uma das principais *commodities* no Brasil e alvo de uma grande variedade de insetos praga, que causam perdas significativas à produção. A principal praga do algodão no Brasil é o *Anthonomus grandis* (bicudo-do-algodoeiro) e seu principal método de controle inclui o uso de inseticidas, contribuindo para o aumento dos custos de produção. Devido a esta demanda, a biotecnologia vem sendo aplicada ao desenvolvimento de novas ferramentas de controle. Entre as diferentes abordagens biotecnológicas, a técnica do silenciamento gênico por RNA interferente vem sendo utilizada como potencial de ser aplicada ao controle desta praga. A atual disponibilidade do banco de dados do transcrito de *A. Grandis* é uma fonte de genes que podem ser validados por esta técnica. Neuropeptídeos são moléculas alvo em potencial, já que atuam no sistema nervoso dos insetos e são importantes em processos como muda e metamorfose. Assim, o objetivo do estudo é realizar a validação funcional de três neuropeptídeos, NP1, NP2 e NP3 no desenvolvimento de *A. grandis* via RNA interferente. Os perfis de expressão dos neuropeptídeos durante o desenvolvimento de *A. grandis* foram avaliados por qRT-PCR utilizando cDNAs de ovo, larvas de 1º, 2º e 3º instares, pré-pupa, pupa e adultos machos e fêmeas. Os fragmentos gênicos de aproximadamente 200pb de cada neuropeptídeo foram clonados no vetor pCR2.1 TOPO TA em *Escherichia coli* cepa XL1-Blue. Em seguida, as clonagens foram confirmadas através de digestão do vetor e sequenciamento. O acúmulo de transcritos do NP1 e NP2 é maior, principalmente na fase de ovo e em fêmeas. No caso do NP3, o maior acúmulo de transcritos deste gene também ocorre em fêmeas. No momento, está em andamento o estudo do silenciamento destes três neuropeptídeos para verificar a sua importância no desenvolvimento deste inseto e a possibilidade do seu uso para o desenvolvimento de novas ferramentas para o controle desta praga.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Biologia Molecular, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biologia Molecular, Ph.D., Max Planck-Berlin

008 - ATUALIZAÇÃO DOS BANCOS DE DADOS: “BIBLIOGRAFIA BRASILEIRA DE NEMATÓIDES” E “DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE NEMATÓIDES NO BRASIL” [Update of databases: "Brazilian bibliography of nematodes" and "Geographical distribution of nematodes in Brazil"]

Nascimento, F.B.¹; Gonzaga, V.²; Cares, J.E.³; Costa, D.C.⁴; Simon, M.F.⁵; Palhares-Melo, L.A.M.⁶; Mendes, M.A.S.⁷

Para dar suporte às análises nematológicas e as demais atividades realizadas na Unidade de Nematologia, da Estação de Quarentena Vegetal da Embrapa, foram desenvolvidas as seguintes bases de dados: Bibliografia Brasileira de Nematóides e Distribuição Geográfica de Nematóides no Brasil. O presente trabalho teve como objetivo realizar levantamento bibliográfico em revistas nacionais e internacionais que publicaram artigos relacionados a nematóides no Brasil. Foram levantadas informações sobre as espécies e/ou gêneros de nematóides, sinônimas, plantas hospedeiras, distribuição geográfica e referências bibliográficas. No período de 1983 a 2012 foram revisados 909 artigos nas seguintes revistas: Nematologia Brasileira, (2009 a 2011), Tropical Plant Pathology (Fitopatologia Brasileira) (2008 a 2012), Summa Phytopathologica (2006 a 2012), Bragantia (1983 a 2012), Pesquisa Agropecuária Brasileira (1999 a 2012), Nematropica (1990 a 2012) e Horticultura Brasileira (1999 a 2012), com 472, 296, 26, 21, 15, 70 e 9 artigos, respectivamente. Foram levantadas informações sobre 51 espécies de nematóides, em mais de 667 plantas hospedeiras. As espécies de nematóides mais citadas foram *Meloidogyne javanica*, *M. incognita*, *Pratylenchus brachyurus*, *M. enterolobii*, respectivamente. Os dados sobre as espécies de nematóides presentes no Brasil foram inseridos nos bancos de dados e serão disponibilizados para consulta via internet.

¹ Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

² Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Nematologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁴ Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Biologia Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷ Fitopatologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

009 - AVALIAÇÃO DA SUSCEPTIBILIDADE DE *Spodoptera frugiperda* J.E. SMITH (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) ORIUNDAS DE ALGODÃO TRANSGÊNICO (975WS) NO ESTADO DO MATO GROSSO ÀS TOXINAS Cry1Ac E Cry1F DE *Bacillus thuringiensis* [Evaluation of the susceptibility of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) from transgenic cotton (975WS) cultivated in Mato Grosso State susceptibility to the *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac and Cry1F toxins]

Macedo, C.L.¹; Oliveira, M.L.C.A.²; Martins, E.S.³; Soares, C.M.S.⁴; Vicentini, G.C.⁵; Almeida, Z.G.⁶; Damaceno, N.B.⁶; Eckstein, B.⁷; Monnerat, R.G.⁸

O Brasil figura entre os cinco maiores produtores de algodão e a maior parte da produção do País provém do Estado do Mato Grosso (MT). A cultura é atacada por diversas pragas, sendo *Spodoptera frugiperda* uma das mais importantes. Dentre as formas de controle das lagartas está o uso de cultivares transgênicas que expressam proteínas (Cry), oriundas da bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt), com atividade inseticida. A cultivar de algodão WideStrike® 975 (975WS), que expressa Cry1Ac e Cry1F, é amplamente cultivada no País e tem sido recomendada para controlar lagartas, incluindo *S. frugiperda*. No entanto, na safra de 2013/2014 produtores mato-grossenses constataram danos significativos provocados por este inseto em lavouras que empregavam essa cultivar. Diante dos relatos, o objetivo deste estudo foi avaliar o nível de susceptibilidade de insetos provindos de lavouras cultivadas com 975WS frente às toxinas Cry1Ac e Cry1F. Para tal, insetos de dois municípios do MT (Lucas do Rio Verde e Campo Verde), foram coletados em março de 2014 e estabelecidas em colônias. Insetos de 2º ínstar foram submetidos a bioensaios com uma dose de 3.500 ng.cm² de cada proteína purificada incorporada em dieta artificial. Após 2 e 7 dias do início do ensaio a taxa de mortalidade foi avaliada. Observou-se que as lagartas apresentaram elevados índices de sobrevivência, mesmo diante da alta dose à que foram submetidas. A taxa de mortalidade foi de 20,8 e 54,2% para as proteínas Cry1Ac e Cry1F, respectivamente, enquanto na população controle teve 100% de mortalidade. Ficou evidente que a população de *S. frugiperda* não está sensível às toxinas expressas pela cultivar 975WS. Este resultado serve de alerta para que seja adotadas estratégias de mitigação de refúgio.

Apoio: Cenargen e CNPq/Capes/UnB.

¹ Biologia Microbiana, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

⁴ Entomologia, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão- IMAmt

⁵ Biologia, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

⁶ Biomedicina, graduação, Faculdades Integradas Promove de Brasília-ICESP

⁷ Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁸ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

010 - AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO E ESTABILIDADE DO PEPTÍDEO GST-HEMOPRESSINA SINTÉTICO E RECOMBINANTE EXPRESSO EM SISTEMA HETERÓLOGO [Performance evaluation and stability of GST-hemopressin peptide in synthetic form and recombinant form expressed in heterologous system]

Oliveira, D.M.¹; Prado, G.S.²; Pelegrini, P.B.³; Vasconcelos, E.A.⁴; Grossi-de-Sá, M.F.⁴

A hemopressina é um nonapeptídeo derivado da cadeia α -1 da hemoglobina de mamíferos. Esta molécula foi identificada em 2003, a partir de extratos cerebrais de ratos, demonstrando atividade hipotensora. Estudos comprovaram seu potencial analgésico e supressor de apetite, através da atividade antagonista dos receptores endocanabinoides CB1. Estes, por sua vez, em condições disfuncionais, estão associados a diversas patologias e morbidades em humanos, como a obesidade. Sendo assim, este estudo tem como objetivo a obtenção da hemopressina na forma recombinante para avaliação da sua atividade biológica, visando ao desenvolvimento de um candidato a biofármaco polivalente em larga escala. Para isso, o gene para codificação do peptídeo foi inserido no vetor pGEX-4T-1 e fusionado a 5' da *tag* GST para expressão e purificação da hemopressina em células de *Escherichia coli*. A transformação bacteriana de *E. coli* XLI Blue foi realizada por eletroporação, utilizando-se ampicilina a 100 μ g/mL como agente seletivo de células transformantes. Após a clonagem, foi realizada a extração do DNA plasmidial, que foi utilizado para transformar células competentes de *E. coli* BL21, visando à expressão heteróloga. Após a otimização das condições de expressão, a quantificação de proteínas e análise da proporção da molécula de interesse por densitometria revelou um excelente rendimento de cerca de 160 mg/L. O peptídeo hemopressina está sendo purificado por cromatografia de afinidade em resina *GlutathioneSepharose 4 Fast Flow*, seguida de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). A quantificação da proteína purificada pelo método de Bradford e sua identificação e caracterização por SDS-PAGE. Testes biológicos *in vivo*, em camundongos, e uma análise comparativa do potencial biológico da molécula serão realizados, por meio de testes com base no peptídeo em sua forma sintética.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e CNPq.

¹ Farmácia, graduação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Biotecnologia, doutorado, Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Ciências Genômicas e Biotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

011 - BUSCA *IN SILICO* DE POTENCIAIS MOLÉCULAS APLICADAS AO CONTROLE DA BROCA GIGANTE DA CANA-DE-AÇÚCAR [*In silico* search for potential molecules applied to the control of banana stem borer]

Pimenta, L.M.¹; Alencar, S.A.²; Fonseca, F.C.A.³; Albuquerque, E.V.S.³; Grossi-de-Sá, M.F.³

O Brasil é o principal produtor de cana-de-açúcar, sendo o país responsável por mais da metade da quantidade de açúcar produzida no mundo. A cultura é atacada por diversas pragas, dentre as quais, o inseto-praga *Telchin licus licus*, a broca gigante da cana-de-açúcar, cujo ciclo de vida dentro do colmo da cana torna ineficaz o controle por meio de inseticidas. Visando alternativas biotecnológicas para o controle da broca, foi realizado o sequenciamento do transcrito do inseto, a partir de mRNA extraído de diversas fases do ciclo de vida, incluindo ovos, larvas, pupas e adultos. A partir do conhecimento do transcrito da broca gigante da cana-de-açúcar pode-se identificar potenciais alvos a serem utilizados em experimentos de silenciamento de genes e transcritos de importância fisiológica para o inseto, utilizando-se da estratégia de RNAi, pelo uso dsRNA, além de estratégias aplicadas ao desenvolvimento de plantas de cana-de-açúcar transgênicas que expressem moléculas potencialmente tóxicas ao inseto. Os dados brutos do transcrito com um total de 653,988 fragmentos curtos (*reads*) foram analisados quanto a sua qualidade e as regiões com baixa qualidade foram eliminadas, assim como homopolímeros. As sequências resultantes (total de 192.822 *reads*) foram montadas por uma abordagem *de novo*, que gerou 8.069 sequências contíguas (*contigs*). Esses *contigs* foram utilizados para a busca por similaridade usando o programa Blastp para similaridade com alta cobertura e ignorando os possíveis *no-hits*. A maioria dos *contigs* teve *blast hits* com o filo Arthropoda, e a maior identidade dos melhores *blast hits* (*top hits*) foi com o bicho-da-seda (*Bombyx mori*). Os resultados de Blastp foram utilizados para encontrar informações sobre a ontologia gênica (GO) e sobre vias metabólicas no banco de dados do KEGG, usando o software Blast2GO. Na prospecção do transcrito, foram encontradas três enzimas com potencial para serem aplicadas como alvo para o controle biológico da broca gigante da cana-de-açúcar. O uso do conhecimento adquirido com o transcrito deste inseto pode auxiliar na criação de técnicas específicas para o seu controle biológico de forma mais eficaz e segura.

Apoio: Embrapa, UCB e Capes.

¹ Biotecnologia, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB, bolsista Capes

² Bioinformática, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

012 - CARACTERIZAÇÃO ENZIMÁTICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES BRASILEIRAS DE *Meloidogyne* [Study of brazilian species of *Meloidogyne*: enzymatic and molecular characterization]

Mattos, V.S.¹; Monteiro, J.M.S.¹; Cares, J.E.²; Correa, V.R.³; Almeida, M.R.A.⁴; Pinheiro, J.B.⁵; Carneiro, R.M.D.G.⁶

Nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) estão entre os principais fitopatógenos do mundo, devido à sua extensa distribuição, ampla gama de hospedeiros, e a capacidade de causar perdas econômicas consideráveis. O controle eficiente desses patógenos depende da identificação correta das espécies. Recentemente, cinco espécies brasileiras de *Meloidogyne* foram descritas (*M. petuniae*, *M. pisi*, *M. phaseoli*, *M. brasiliensis* e *M. polycephannulata*) sem caracterização molecular detalhada. Portanto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar essas espécies através de estudos morfológicos, enzimáticos (fenótipo de esterase) e moleculares. *Meloidogyne petuniae* Est Pe2 (Rm: 0,95, 1,08) e *M. pisi* Est PI5 (Rm: 0.91,0.95,1.12,1.25,1.33) apresentaram novos fenótipos de esterase espécie-específicos. *Meloidogyne phaseoli*, *M. brasiliensis* e *M. polycephannulata* apresentaram o mesmo perfil de *M. morocciensis* (Est A3, Rm: 1.1,1.2,1.3), *M. ethiopica* (Est E3, Rm: 0.9,1.05,1.20) e *M. incognita* (Est I2, Rm:1.0, 1.1), respectivamente. Reações de PCR com os *primers* específicos SCAR confirmaram os resultados dos fenótipos de esterase: *M. phaseoli* e *M. morocciensis*, ambos mostraram um único fragmento específico de 420 pares de base (pb), bem como em *M. brasiliensis* e *M. ethiopica* (350 pb) e *M. polycephannulata* e *M. incognita* (399 pb). Estudos morfológicos preliminares revelaram semelhanças com caracteres de fêmeas, machos e juvenis do segundo estágio entre essas espécies. Estudos adicionais, incluindo morfologia, seqüenciamento das regiões ITS (18S rRNA), D2-D3 (28S rRNA) e análises filogenéticas estão sendo realizadas a fim de esclarecer o *status* taxonômico dessas espécies brasileiras de *Meloidogyne*.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Fitopatologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

³ Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

⁴ Química, graduação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Nematologia, Ph.D., Embrapa Hortaliças

⁶ Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

013 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE POPULAÇÕES DE BORRACHUDOS, *Simulium pertinax* KOLLAR (DIPTERA: SIMULIIDAE), EM DIFERENTES REGIÕES DO BRASIL [Molecular characterization of populations of the *Simulium pertinax* Kollar (Diptera: Simuliidae) in different regions of Brazil]

Souza, V.S.¹; Martins, E.S.²; Lima, A.A.³; Ferreira, B.C.³; Soares, C.M.S.⁴; Queiroz, P.R.²; Monnerat, R.G.⁵

Algumas espécies pertencentes à família Simuliidae, tais como, *Simulium pertinax*, popularmente conhecido como mosquito Borrachudo estão relacionados com as áreas agrícola, veterinária, médica e da indústria turística, podendo causar prejuízos econômicos no país. O mosquito borrachudo é um inseto hematófago de hábito diurno. Suas picadas provocam pequenas hemorragias e podem vir a ocorrer alguns casos de alergia. Estudos relataram alguns dos maiores prejuízos causados pelo mosquito borrachudo como: diminuição da mão de obra do produtor rural, dificuldade no desenvolvimento do turismo, queda na produção de carne e leite (mamites, infecções). Sendo assim, conhecer as características pertinentes a este grupo é de extrema importância para o mapeamento e conhecimento das localidades alvo desta espécie de importância médico-veterinária, de lugares com interesse para a agricultura, além de turística. Para auxiliar os estudos entomológicos, marcadores moleculares estão disponíveis. Dentre eles, podemos citar o gene citocromo oxidase I (COI), o qual está presente no DNA mitocondrial. Este vem respondendo perguntas principalmente sobre estudos de filogenia, evolução, ecologia e dinâmica das populações. O presente estudo buscou utilizar ferramentas moleculares, tais como PCR-RFLP, para caracterizar as populações de *S. pertinax* em algumas regiões brasileiras. Sendo assim, uma amostragem total de 200 indivíduos foram coletados em alguns córregos do Distrito Federal e Goiás, e em outras regiões do Brasil. Após coleta, o DNA total foi extraído e submetido a PCR utilizando oligonucleotídeos específicos para o gene COI, seguido de digestão com enzima de restrição *Apa* I. De acordo com os resultados obtidos foi possível identificar pelo menos sete haplótipos, ou seja, diferentes perfis genéticos entre as espécies de *S. pertinax* analisadas. Por tanto, o estabelecimento do perfil genético dessa espécie, em uma determinada região, pode contribuir com estudos complementares que visam o menor impacto econômico causado pelos mosquitos borrachudos em diferentes áreas.

Apoio: Cenargen, CNPq e IMAmt.

¹ Biomedicina, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

² Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

³ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

⁴ Entomologia, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

⁵ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

014 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES ESPÉCIE-ESPECÍFICOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DE *Meloidogyne arabicida* E *Meloidogyne izalcoensis* [Development of species-specific markers for identification of *Meloidogyne arabicida* and *Meloidogyne izalcoensis*]

Correa, V.R.¹; Santos, M.F.A.²; Almeida, M.R.A.³; Peixoto, J.R.⁴; Castagnone-Sereno, P.⁵; Carneiro, R.M.D.G.⁶

A identificação de *Meloidogyne* spp., através de métodos convencionais, tem sido difícil e pouco precisa devido a variação de caracteres morfológicos observados numa mesma espécie. De modo geral, a combinação de métodos bioquímicos e moleculares tem se mostrado eficientes na diagnose precisa dos nematóides das galhas. Neste estudo foram desenvolvidos marcadores moleculares específicos do tipo SCAR-PCR para a detecção de *Meloidogyne arabicida* e *M. izalcoensis* (Tylenchida: Meloidogynidae), duas espécies economicamente importantes parasitas do cafeeiro na América Central. Fragmentos polimórficos amplificados através de reações de RAPD-PCR foram selecionados e transformados em sequências específicas do tipo SCAR. A especificidade dos *primers* desenvolvidos para a análise SCAR-PCR foi demonstrada através da amplificação de fragmentos únicos de aproximadamente 300 e 670 pb para *M. arabicida* e *M. izalcoensis*, respectivamente, em comparação às espécies controles comumente associadas ao parasitismo do cafeeiro. A especificidade dos *primers* também foi evidenciada por amplificar DNA alvo de um único indivíduo J2, macho ou fêmea, além de DNA de populações de campo, contendo mistura de espécies. Portanto, o uso desses marcadores para essas duas espécies de nematóides, combinado aos marcadores já existentes para *M. exigua*, *M. incognita*, *M. paranaensis*, *M. enterolobii* e *M. arenaria*, formam uma ferramenta extremamente importante na diagnose molecular dos principais nematóides fitoparasitos do cafeeiro nas Américas.

Apoio: Capes/CNPq.

¹ Ciências Agrárias, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Engenharia Química, graduação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

⁴ Agronomia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁵ Biologia Molecular, Ph.D., INRA Sophia Antipolis, França

⁶ Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

015 - DINÂMICA FOLICULAR OVARIANA EM BEZERRAS NELORE (*Bos taurus indicus*) DE 2 A 3 MESES DE IDADE [Ovarian follicular dynamics in 2 to 3 months of age Nelore calves (*Bos taurus indicus*)]

Zacarias, T.A.¹; Sena-Netto, S.B.²; Mendonça, A.S.³; Franco, M.M.⁴; Figueiredo, R.A.⁴

O Brasil tem o maior rebanho bovino comercial do mundo (\cong 193,4 milhões de animais) e cerca de 80% destes são animais zebuínos (*Bos taurus indicus*) puros ou cruzados, da raça Nelore. As técnicas de reprodução animal assistida (TRA) na bovinocultura têm contribuído significativamente para acelerar ganhos genéticos em programas de melhoramento animal. As TRA podem permitir ainda a inclusão de fêmeas, mesmo que fora da idade reprodutiva (animais mais jovens ou mais velhos). O uso da ultrassonografia tem permitido, em tempo real e de modo não invasivo, aprofundar a caracterização da fisiologia reprodutiva de fêmeas bovinas. Este estudo foi realizado no Campo Experimental Fazenda Sucupira da Embrapa (Brasília-DF) e objetivou avaliar diariamente, por ultrassom transretal (Aloka 500, transdutor linear 7,5 MHz), a dinâmica folicular ovariana de dez bezerras Nelore, de 1 a 4 meses de idade, por 20 dias consecutivos. Ovários e folículos $\geq 2,0$ mm foram identificados e mensurados a partir da média de seus diâmetros máximos longitudinais e perpendiculares. As bezerras com menos de 2,25 meses de idade ($n=4$) não apresentaram folículos $\geq 2,5$ mm e então, apenas os demais animais ($n=6$) passaram a ser monitorados. O diâmetro máximo dos ovários destes animais foi de $13,6 \pm 0,6$ mm e estes apresentaram até $31,4 \pm 3,45$ folículos visíveis ao ultrassom. Observou-se um padrão de sucessivas ondas foliculares anovulatórias, onde em cada onda se verificou um folículo dominante e um número variável de outros menores (subordinados). O dia de início da primeira onda observada em cada animal foi considerado o dia zero e, a partir daí, sucessivamente, a segunda onda iniciou-se no dia $5,83 \pm 1,94$ e a terceira iniciou-se no dia $9,66 \pm 2,08$. O comprimento das ondas foliculares foi de $9,2 \pm 2,0$ dias com início da regressão $6,33 \pm 1,63$ dias após a detecção do início da onda folicular. Os folículos dominantes tiveram a taxa de crescimento de $0,47 \pm 0,13$ mm/dia e alcançaram o diâmetro máximo de $3,03 \pm 0,17$ mm. Apesar das bezerras Nelore de 2 a 3 meses de idade apresentarem diâmetros ovarianos e foliculares menores e obviamente não apresentarem ovulações, quando comparados a animais pós-púberes, o padrão de consecutivas ondas foliculares e o número de folículos recrutados por onda foram similares aos relatados para fêmeas zebuínas em atividade reprodutiva. Estes dados podem caracterizar um momento precoce crítico para o desenvolvimento reprodutivo destes animais e serão utilizados para propor protocolos de tratamento hormonal, visando à produção in vitro de embriões nesta categoria de animais.

Apoio: Embrapa e Fapemig.

¹ Ciências Veterinárias, mestrado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

² Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

³ Genética e Bioquímica, doutorado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

⁴ Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

016 - DISTRIBUIÇÃO DE ABUNDÂNCIA DE *Condylostylus* spp. (DIPTERA: DOLICHOPODIDAE), POTENCIAL AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO, EM SISTEMAS DE PRODUÇÃO ORGÂNICA DE HORTALIÇAS [Abundance distribution of *Condylostylus* spp., potential biological control agent, in organic production systems of vegetable]

Harterreiten-Souza, É.S.¹; Araujo, L.K.P.²; Sujii, E.R.³; Pujol-Luz, J.R.⁴

Moscas dolicopodídeos são predadoras de pequenos invertebrados de corpos macios e podem ser encontradas em uma variedade de ambientes, por serem ativas durante a fase adulta. Entretanto, a influência das práticas agroecológicas, como a diversificação da vegetação e o manejo da produção na abundância do grupo ainda precisam ser avaliadas. Para isso, foram selecionados habitats de hortaliças, pousio, agrofloresta e vegetação nativa de cinco propriedades de produção de hortaliças orgânicas, localizadas em diferentes regiões do DF. Os adultos foram coletados com armadilhas adesivas amarelas (15x20cm), mensalmente, durante os meses de maio/2013 a abril/2014. Foram coletados 21.877 indivíduos nas propriedades rurais, que diferiram a abundância média (\pm erro padrão) entre os habitats de hortaliças ($47,93 \pm 3,04$), pousio ($34,57 \pm 2,03$), agrofloresta ($10,18 \pm 0,98$) e vegetação nativa ($3,16 \pm 0,53$) (KW- $H_{(3;816)}=380,34$; $P<0,000$). Quando comparada a abundância entre as propriedades e ao longo dos meses, maiores valores foram encontrados apenas naquelas localizadas nos núcleos rurais de Lamarão ($39,13 \pm 4,32$) e Ceilândia ($35,19 \pm 3,00$) (KW- $H_{(4;543)}=159,61$; $P<0,000$), especialmente, durante os meses de dezembro ($53,29 \pm 6,46$) e janeiro ($47,51 \pm 4,91$), com uma queda durante o mês de agosto ($5,86 \pm 0,7$) (KW- $H_{(11;816)}=101,81$; $P<0,000$). Uma maior abundância de *Condylostylus* spp. encontrada em habitats mais simplificados na vegetação e mais perturbados pelas práticas de manejo pode ser explicado pela maior disponibilidade de recurso alimentar e fácil localização da presa, já que a vegetação é dominada, principalmente, por plantas herbáceas, quando comparada aos habitats mais diversos na vegetação e com maior predominância de plantas arbóreas. Além disso, período com elevadas temperaturas e umidade relativa do ar, observados durante o verão, parecem também contribuir para o aumento populacional do grupo.

Apoio: Cenargen, CNPq e Capes/UnB.

¹ Ecologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

³ Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Entomologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

017 - EFEITO DA BIÓPSIA DE CÉLULAS DO CUMULUS DE COMPLEXO-CUMULUS-OVÓCITO E DO CULTIVO INDIVIDUAL NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS [Effect of cumulus cells biopsy from cumulus-oocyte-complex and individual culture system on bovine *in vitro* embryos production]

Kussano, N.R.¹; Leme, L.O.²; Franco, M.M.³; Dode, M.A.N.³

Parâmetros morfológicos têm sido utilizados na seleção de ovócitos em técnicas de reprodução assistida, mas são insuficientes para distinguir ovócitos mais competentes. As células do cumulus (CC) possuem comunicação bi-direcional com o ovócito e são importantes no seu crescimento e maturação, podendo serem usadas para indicar a qualidade do ovócito de modo não invasivo. Estudos têm identificado genes candidatos para a competência ovocitária em CC, que podem ser usados como marcadores. A comprovação da eficiência de marcadores nas CC seria avaliar as células e acompanhar o desenvolvimento individual de cada complexo cumulus-ovócitos, CCO, até a formação do blastocisto. Buscou-se avaliar a quantidade de RNA presente em uma biópsia de CCO e o efeito da biópsia e do cultivo individual no desenvolvimento embrionário. Para isso CCO obtidos de ovários de frigorífico após a seleção foram colocados em uma gota de 60 µl de PBS, e com o auxílio da lâmina oftálmica (Straight 15°, ACCUTOME®) um pequeno fragmento do CCO foi retirado e armazenado individualmente. Com relação à quantidade de RNA das biópsias, foram avaliados 5 grupos em três réplicas, que compreendiam o número de biópsias utilizadas para formar o pool (1, 5, 10, 15 e 20 biópsias), sendo que cada uma era obtida de 1 CCO. O RNA foi extraído utilizando o kit RNeasy Plus® e a sua quantificação no Nanodrop. Foi avaliado o efeito do cultivo individual na PIV. Utilizando o sistema WOW para maturação in vitro (MIV), fecundação in vitro (FIV) e o cultivo in vitro (CIV) foi comparado ao controle em que MIV, FIV e o CIV foram realizadas em gotas de 200 µl em um total de 3 réplicas. Depois foi testado o efeito da biópsia na produção de blastocisto em CCO biopsiados e cultivados em WOW até o D7 foi comparada a do grupo controle cultivado em grupo em gotas de 200 µl em quatro réplicas. Os dados de quantidade de RNA foram analisados pelo teste Kruskal-Wallis ($P < 0,05$), e as taxas de embrião pelo Chi-quadrado ($P < 0,05$). A quantidade de RNA não foi diferente entre os grupos de 1, 5, 10, 15 e 20 biópsias ($5,36 \pm 3,39$; $8,52 \pm 7,51$; $11,63 \pm 5,59$; $10,45 \pm 1,98$; $11,95 \pm 6,32$). Houve grande variação entre as réplicas em cada grupo e não foi observada diferença na taxa de blastocisto em D7 entre o cultivo individual em WOW (33,9%) e o cultivo em grupo (40,4%). O cultivo individual associado à biópsia, afetou a taxa de blastocisto que foi superior no controle (22,1% vs 48,7%). Essa redução na produção de blastocisto pode ser devido ao maior tempo de manipulação dos CCO's para a biópsia e manuseio na placa de WOW. Conclui-se que a biópsia associada ao cultivo individual reduz a produção de blastocisto, mas pode ser utilizada para obter RNA para estudos de validação de marcadores moleculares.

Apoio: Cenargen e Capes.

¹ Medicina Veterinária, mestrado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

² Medicina Veterinária, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

018 - EFEITO DO CULTIVO IN VITRO NA EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS ÀS EVENTOS EPIGENÉTICOS EM EMBRIÕES BOVINOS NO D14 DE DESENVOLVIMENTO [Effect of *in vitro* culture in the expression of genes related to epigenetic events in bovine embryo on D14 of development]

Guimarães, A.L.S.¹; Machado, G.M.¹; Ferreira, A.R.²; Sprícigo, J.F.W.¹; Pivato, I.³; Franco, M.M.⁴; Dode, M.A.N.⁴

Em mamíferos, a correta reprogramação do DNA é essencial para a gametogênese e embriogênese. Eventos epigenéticos tais como a metilação do DNA e modificações nas histonas têm papel fundamental nessa reprogramação. As principais modificações epigenéticas podem ser influenciadas por fatores ambientais, sendo que o aumento nessas alterações tem sido associado ao uso das técnicas de reprodução assistida, devido principalmente, à manipulação *in vitro*. Portanto, padrões de metilação anormais podem ser responsáveis pelas menores taxas de prenhez observadas em embriões produzidos *in vitro* comparados aos *in vivo*. Considerando que modificações epigenéticas são realizadas por ação de várias enzimas, tais como a DNA metil (citosina-5-) transferase (DNMTs), histona acetiltransferase (HAT), histona desacetilase (HDAC) e histona metil-transferase (HMTs), a expressão dessas podem indicar alterações epigenéticas que comprometem o desenvolvimento embrionário e a manutenção da gestação. Objetivou-se avaliar se a PIVE afeta a expressão das enzimas, responsáveis pela manutenção (DNMT1) e estabelecimento (DNMT3B) da metilação do DNA e pela metilação das histonas (SUV39H1) em um estágio mais avançado do desenvolvimento (D14). Para a PIVE, ovócitos obtidos de ovários de abatedouro foram maturados, fecundados (D0) e cultivados *in vitro* até D7. No D7 de cultivo os blastocistos grau um foram selecionados e transferidos em número de 10 para o corno uterino de receptoras previamente sincronizadas (grupo *vitro/vivo*). Como controle, foram utilizados embriões coletados no dia 7 pós-inseminação de doadoras superestimuladas. Após a lavagem uterina os blastocistos em estágio e qualidade semelhante aos *in vitro* foram transferidos em número de 10 para receptoras sincronizadas (grupo *vivo/vivo*). Embriões de ambos os grupos foram coletados em D14, e uma biópsia do trofoblasto foi retirada de cada embrião e armazenada individualmente. Foram formados quatro *pools* de cada grupo, e o RNA foi extraído (RNeasy Mini Kit plus Qiagen). A expressão dos genes alvo foi mensurada por RT-PCR em tempo real, sendo a ciclofilina utilizada como controle endógeno. Os valores relativos da expressão dos genes foram obtidos pelo método $\Delta\Delta Ct$ corrigidos pela eficiência de amplificação para cada gene (equação de Pfaffl). Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o programa Prophet 5.0. As médias dos níveis de mRNA dos genes alvo foram comparadas usando o Teste de Tukey ($P < 0,05$). Nenhuma diferença ($P > 0,05$) foi detectada nos níveis de transcrito dos genes avaliados em embriões produzidos *in vivo* e *in vitro* no D14 de desenvolvimento. Esses resultados sugerem que o cultivo *in vitro* não afeta a expressão posterior de genes responsáveis por alterações epigenéticas e, que provavelmente esses embriões possuem padrão epigenético semelhante aos produzidos *in vivo*.

Apoio: CNPq/FAP-DF e Capes.

¹ Medicina Veterinária, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Medicina Veterinária, doutorado, Universidade Est. Paulista Júlio de Mesquita Filho-UNESP

³ Medicina Veterinária, Universidade de Brasília-UnB

⁴ Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

019 - EFEITO DO FATOR DE CRESCIMENTO DE FIBROBLASTO 10 (FGF-10) DURANTE A MIV E A PRÉ-MIV NA PRODUÇÃO IN VITRO DE EMBRIÕES BOVINOS [Effect of fibroblast growth factor 10 (FGF-10) during IVM and pre-IVM on bovine *in vitro* embryo production]

Diógenes, M.N.¹; Dode, M.A.N.²

Os ovócitos usados nas técnicas de reprodução assistida normalmente retirados de folículos de 3-8mm, são menos competentes que os maturados *in vivo*. Ao serem retirados dos folículos, retomam a meiose espontaneamente, sendo privados dos eventos foliculares que ocorrem no período pré-ovulatório, essenciais para a aquisição de competência. Alternativas para melhorar a qualidade dos ovócitos devem ser estudadas para aprimorar a eficiência da produção *in vitro* (PIV). O FGF-10 é um importante fator de crescimento secretado pelo ovócito e pelas células da teca, que estão ausentes durante a maturação *in vitro* (MIV). Benefícios na expansão das células do *cumulus*, na quantidade e na qualidade dos embriões bovinos, foram relatados quando o FGF-10 foi adicionado durante a MIV. O estudo buscou avaliar o efeito do FGF-10 (0,5ng/ml) na MIV e na pré-MIV para PIV de embriões bovinos. O meio pré-MIV continha 0,2% de BSA, 10⁻⁴UI/ml de FSHrh e 10µM de Cilostamida. Já o MIV, 0,4% de BSA e 10⁻¹UI/ml de FSHrh. Avaliou-se o efeito da presença do FGF-10 na MIV. Complexos *cumulus* ovócitos (CCOs) foram aspirados de ovários de abatedouro e, após a seleção, foram distribuídos em 2 grupos: T1: controle com CCOs maturados em meio MIV por 22h (n= 124); T2: tratamento com CCOs maturados por 22h em meio MIV com FGF10 (n=124). Foi avaliado se a presença do FGF-10, durante um período de pré-MIV (22 h) seguido pela MIV, afetaria a produção embrionária. CCOs foram distribuídos em 5 grupos: C: controle, com CCOs maturados por 22h (n=116); PCMC: CCOs pré-maturados por 22h e posteriormente maturados por 22h (n=119); PCMFGF: CCOs pré-maturados por 22h e posteriormente maturados por 22h com FGF-10 (n=119); PFGFMC: CCOs pré-maturados com FGF-10 por 22h e posteriormente maturados por 22h (n=111). PFGFMFGF: CCOs pré-maturados por 22h com FGF-10 e posteriormente maturados por 22h com FGF-10 (n=113). CCOs de todos os grupos, após a maturação, foram fecundados e cultivados até o dia 7 (D7) de desenvolvimento. Foram avaliadas as taxas de clivagem (D2) e produção de blastocisto (D7). Os dados foram avaliados pelo Teste do Qui-quadrado (P<0,05). Não houve diferença estatística em D2 (87,9 e 91,9%) e D7(50 e 47,5%) entre os grupos T1 e T2. Quando foi avaliado o efeito do FGF-10 na pré-MIV, o grupo PGFGMFGF foi semelhante ao controle em D2 (84,4 e 82,3%) e D7 (56,8 e 46,9%). Os demais grupos foram inferiores ao controle e semelhantes entre si em D2 e D7 (PCMC: 73,1 e 43,6%; PCMFGF: 78,1 e 42,8%; PFGFMC: 79,2 e 41,4%). Os resultados sugerem que o FGF-10 não melhora a produção embrionária quando adicionado durante a MIV, porém, quando adicionado na pré-MIV e MIV, diminui o efeito prejudicial da retenção meiótica na PIV. Mais estudos são necessários para avaliar melhor outros efeitos do FGF-10 na PIV bovina.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Medicina Veterinária, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

020 - ESTABELECIMENTO E MANUTENÇÃO DE UMA COLEÇÃO CRIOPRESERVADA DE *Meloidogyne* spp.

Cimas, G.A.¹; Sousa, M.G.²; Carneiro, R.M.D.G.³

A manutenção de culturas de referência de microrganismos e invertebrados, visando estudos de identificação e caracterização é um dos objetivos dos projetos da EMBRAPA - Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN). A manutenção de culturas puras de *Meloidogyne* spp. em seus respectivos hospedeiros para estudos de identificação, caracterização e resistência genética, é uma tarefa trabalhosa que requer inoculações e purificações das populações de nematóides por um longo período de tempo. A técnica de criopreservação empregada no acervo atualmente mantido na unidade consistiu de duas etapas iniciais, utilizando como crioprotetor o etileno glicol. O congelamento foi feito através da imersão de tiras de papel contendo os juvenis de segundo estágio (J2) diretamente em nitrogênio líquido (NL). Em seguida, as tiras de papel foram colocadas em criotubos e armazenadas em botijões de NL. Essa técnica mostrou-se altamente eficiente ao longo de 10 anos, pois permitiu o congelamento e descongelamento de várias espécies de *Meloidogyne* spp. por tempo indeterminado. Dessa maneira, foi constituída esta coleção que conta atualmente com 276 populações das seguintes espécies: *M. arabicida* (3), *M. arenaria* (32), *M. brasiliensis* (3), *M. coffeicola* (1), *M. crusciani* (1), *M. enterolobii* (23), *M. ethiopica* (16), *M. exigua* (25), *M. floridensis* (1), *M. graminicola* (2), *M. hapla* (4), *M. hispanica* (3), *M. incognita* (39), *M. inornata* (3), *M. izalcoensis* (3), *M. javanica* (63), *M. konaensis* (1), *M. luci* (1), *M. morociensis* (3), *M. orizae* (1), *M. paranaensis* (24), *M. petuniae* (1), *M. phasealus* (1) e alguns *Meloidogyne* spp (21). Embora a coleção conte com cerca de 12.000 J2 por população, ela ainda não está disponibilizada aos nematologistas.

Apoio: CNPq, Embrapa e Capes.

¹ Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB, bolsista CNPq

² Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

021 - ESTRATÉGIA BIOTECNOLÓGICA PARA O CONTROLE DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO: EXPRESSÃO HETERÓLOGA COMO PERSPECTIVA PARA APLICAÇÕES EM TRANSGENIA [Biotechnological strategy for controlling the cotton boll weevil: heterologous expression as a perspective for transgenesis applications]

Prado, G.S.¹; Abreu, J.A.C.²; Pelegrini, P.B.³; Silva, M.C.M.⁴; Grossi-de-Sá, M.F.⁴

O bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis* B.) é a principal praga da cotonicultura brasileira. Diversas estratégias moleculares têm sido utilizadas para o controle deste inseto, como o uso de proteínas indutoras de inanição por transgenia. O inibidor de α -amilase C3 (α IC3) foi obtido a partir da recombinação e seleção *in vitro*, por meio das técnicas de DNA *shuffling* e *phage display*, partindo de dois inibidores de α -amilase isolados de sementes de *Phaseolus vulgaris* L. O α IC3 apresenta alta atividade inibitória sobre as enzimas α -amilases de *A. grandis*. Visando a avaliação de biossegurança da proteína α IC3 por meio de protocolos de segurança alimentar e sobre organismos não-alvo, houve a necessidade de se estabelecer um sistema de expressão, com acurácia no processamento pós-traducional, para a produção em grande quantidade da proteína recombinante. O musgo *Physcomitrella patens* tem sido estabelecido como um sistema de expressão ideal devido à sua versatilidade e simplicidade de cultivo. Assim, o objetivo deste estudo é otimizar as condições de expressão heteróloga em sistema de musgo para a obtenção de quantidades suficientes de α IC3. Foi construído o vetor pTHUBIgate-C3, contendo a sequência do gene *aic3*, sob o controle do promotor da ubitiquina de milho (*Zea mays* L.), com o terminador do gene da nopalina sintase de *Agrobacterium tumefaciens*. Foi feita a transformação de protoplastos do musgo *P. patens*, e os transformantes foram selecionados em meio de cultura PpNH4 contendo higromicina a 15 μ g/mL como marcador de seleção. A expressão foi escalonada em biorreator WAVE, contendo meio de cultura Knop líquido, higromicina e biomassa de 50 mg/L. Diferentes cultivos, de 1 L a 12 L de meio de cultura, foram conduzidos com fotoperíodo de 16h/8h. Após a extração e liofilização de proteínas totais, quantificou-se um rendimento de 2,46 mg de proteínas a cada 1 g de massa seca, corroborando com a viabilidade do uso desse sistema para a expressão de proteínas heteróloga em quantidades adequadas. A presença da proteína de interesse foi confirmada por gel de tris-tricina a 16% e Western blot, e os ensaios *in vitro* de inibição enzimática de α -amilase de *A. grandis* (AGA) pelo extrato proteico indicaram que o α IC3 apresentou IC50 de 75 ng para AGA. Porém, ajustes estão sendo feitos no sistema, de forma a aumentar o rendimento final da proteína expressa em sua forma extracelular para realizar avaliações de biossegurança.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

¹ Ciências Genômicas e Biotecnologia, doutorado, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Biotecnologia, graduação, Universidade Federal do Paraná-UFPR

³ Ciências Genômicas e Biotecnologia, Ph.D., BioLife Brasil Ltda

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

022 - ESTRATÉGIA MOLECULAR APLICADA AO CONTROLE DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO: SUPEREXPRESSÃO DE TOXINA CRY E SILENCIAMENTO GÊNICO [Molecular approach applied on cottonboll weevil control: Cry toxin overexpression and gene silencing]

Martins, S.K.L.S.¹; Lira, P.²; Amorim, R.M.S.³; Macedo, L.L.P.⁴; Grossi-de-Sá, M.F.⁵

O bicudo-do-algodoeiro (*Anthonomus grandis*) é considerado um dos insetos-praga mais importantes da cotonicultura brasileira, devido aos danos severos causados, nas principais regiões produtoras de algodão. Tendo em vista, o hábito endofítico. O presente estudo, portanto, tem por objetivo validar, em plantas de algodão, o potencial uso desses genes, através da expressão da toxina *Cry8Ka5* e de dsRNAs, para os genes da Quitina Sintase II e da Vitelogenina. Foram bombardeados 3.500 embriões, destes, 186 plantas aclimatadas em casa de vegetação. 19 plantas foram detectadas por PCR. A análise da expressão da proteína *Cry8Ka5* foi realizada pela técnica de ELISA, resultando em 11 plantas positivas, expressando entre 8-90 µg de toxina *Cry8Ka5* por grama de tecido fresco. Os botões florais de plantas da geração T1 GM foram desafiadas por larvas do inseto-praga. A ingestão dessas plantas causou a diminuição da expressão de Quitina Sintase II (CHS2) em larvas de *A. grandis*, avaliadas por qRT-PCR. Outros experimentos ainda serão realizados para concluir a validação desses genes. Esse trabalho será de grande importância, a fim de, reforçar os indícios da possibilidade de utilizar a metodologia do RNAi para controle genético de insetos-praga, em específico do bicudo-do-algodoeiro.

Apoio: Cenargen e Capes/UCB.

¹ Biomédica, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Biomedicina, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

³ Ciências da Saúde, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁴ Ciências Genômicas e Biotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

023 - EXTRAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E ATIVIDADE QUIMIOTÁXICA DO FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DE *Alphitobius diaperinus* (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE) NO BRASIL [Extraction, identification and behavioral activity of a male-produced aggregation pheromone in the Lesser Mealworm *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae) in Brazil]

Hassemer, M.J.¹; Sant'Ana, J.²; Oliveira, M.W.M.³; Laumann, R.A.⁴; Borges, M.⁴; Blassioli-Moraes, M.C.⁵

O cascudinho-dos-aviários, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera, Tenebrionidae), é uma importante praga na avicultura industrial. A presença deste inseto em aviários pode prejudicar sistemas de isolamento térmico de galpões climatizados e influenciar de forma negativa os índices de desempenho zootécnico das aves. Este fato se deve tanto à perda de ganho de peso relacionada à baixa conversão alimentar dos insetos pelas aves, como ao fato deste ser um potencial transmissor de doenças avícolas. O uso indiscriminado de inseticidas na cama do aviário e a falta de uma tecnologia adequada de aplicação tornam este controle inadequado. Desta forma, este trabalho teve como objetivo extrair e identificar o feromônio de agregação de *A. diaperinus* de populações brasileiras, bem como, avaliar as respostas comportamentais desta espécie frente a estes voláteis, visando uma alternativa para o controle e/ou manejo comportamental desta praga. Para obtenção dos compostos feromonais foram utilizadas câmaras de aeração (200 insetos/sexo). Os extratos foram analisados em cromatógrafo gasoso acoplado a detector de ionização de chama e cromatógrafo gasoso acoplado à espectrometria de massas. O comportamento de *A. diaperinus* foi avaliado em olfatômetro de dupla escolha (tipo "Y"). Foram identificados seis compostos feromonais macho-específicos: 1) (*R*)-limoneno ($49,0 \pm 10,4$ ng), 2) (*E*)- β -ocimeno ($31,3 \pm 6,9$ ng), 3) 2-nonanona ($7,0 \pm 1,4$ ng), 4) (*S*)-linalol ($50,0 \pm 12,9$ ng) e 5) (*R*)-dauceno ($18,4 \pm 1,2$ ng), descritos previamente em populações de *A. diaperinus* norte americanas e 6) Sesquiterpeno ($44,5 \pm 10,8$ ng), produzido pela população brasileira. Tanto o extrato de machos, quanto a mistura total das substâncias sintéticas foram atrativas a ambos os sexos do cascudinho-dos-aviários. Não havendo resposta positiva quando algum dos componentes da mistura foi retirado. Um novo composto macho-específico foi identificado em populações brasileiras de *A. diaperinus* e os resultados comportamentais sugerem que este é essencial para que ocorra a atratividade de ambos os sexos.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Zoologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Ecologia Química, Ph.D., Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS

³ Química, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

024 - FATORES DE MORTALIDADE DE *Bemisia tabaci* BIÓTIPO B EM CULTIVOS CONVENCIONAIS E ORGÂNICOS DE TOMATE [Factors influencing the mortality of *Bemisia tabaci* biotype B in conventional and organic tomato crops]

Ribeiro, J.P.C.S.¹; Souza, L.M.²; Togni, P.H.B.³; Sujii, E.R.⁴

A mosca branca *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) é um importante herbívoro-praga polífago considerado mundialmente como uma das principais pragas do tomateiro. O ataque desse inseto pode causar prejuízos severos à cultura devido aos danos diretos pela sucção da seiva ou indiretos pela transmissão de um complexo de viroses. Essa espécie possui inúmeros inimigos naturais, incluindo predadores, parasitóides e patógenos, que podem resultar no maior controle dessa praga dependendo do tipo de sistema de manejo empregado. O objetivo deste trabalho foi comparar a mortalidade da mosca branca entre os sistemas de cultivo orgânico e convencional de tomate. Foram amostradas 13 propriedades produtoras de tomate no Distrito Federal entre março e setembro de 2014. Dentre essas oito foram propriedades orgânicas e cinco convencionais. Em cada propriedade foram instaladas 20 gaiolas do tipo “clip-cage” contendo de 20 moscas-brancas adultas em folhas escolhidas aleatoriamente no tomateiro com no mínimo 30 dias de plantio no campo (cortes verticais). Após dois dias realizando posturas, as moscas foram removidas e foram identificados os fatores de mortalidade nos últimos instares (3º e 4º instar) das ninfas que se desenvolveram nas folhas. Foi observado que a mortalidade das ninfas de mosca-branca foi maior no sistema orgânico do que no sistema convencional. A predação foi considerada um fator chave de mortalidade, seguido do desalojamento de ninfas das plantas nos dois sistemas de cultivo. Outros fatores de mortalidade como parasitismo e mortalidade por doenças foram muito baixos ou não foram observados no sistema convencional em comparação ao sistema orgânico. Além disso, a sobrevivência das ninfas foi maior no sistema convencional do que no orgânico, indicando que fatores bióticos de mortalidade podem favorecer o controle da mosca branca em sistemas orgânicos de produção. Portanto é provável que o uso de inseticidas no sistema convencional tenha reduzido a importância dos fatores de mortalidade que dependem principalmente da conservação dos inimigos naturais. O sistema orgânico de produção de tomate pode ser favorável ao controle biológico da mosca-branca.

Apoio: Embrapa, CNPq e UNIP.

¹ Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

² Entomologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Entomologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB/Universidade Paulista-UNIP

⁴ Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

025 - IDENTIFICAÇÃO DOS HIDROCARBONETOS CUTICULARES DE *Dichelops melacanthus* E *Euschistus heros* (HEMIPTERA: PENTATOMIDAE) [Identification of cuticular hydrocarbons of *Dichelops melacanthus* (Hemiptera: Pentatomidae) and *Euschistus heros* (Hemiptera: Pentatomidae)]

Rossi, M.B.¹; Blassioli-Moraes, M.C.²; Laumann, R.A.³; Borges, M.³

Dichelops melacanthus é uma importante praga da agricultura brasileira, que ainda não teve o feromônio sexual identificado. No entanto, estudos conduzidos no laboratório em olfatometria sugerem que essa espécie não usa feromônio sexual como uma informação a longa distância, para encontrar o parceiro para acasalamento, conforme registrado para outros pentatomídeos. Desta forma, este trabalho tem como objetivo avaliar se há reconhecimento sexual a curta distância da espécie através dos hidrocarbonetos cuticulares. Para a identificação dos hidrocarbonetos cuticulares 20 machos e fêmeas de cada espécie tiveram os hidrocarbonetos extraídos usando um pequeno cotonete de algodão esterilizado que foi embebido em solvente orgânico (*n*-hexano) e gentilmente esfregado no pronotum do inseto. Após esfregar o cotonete foi mergulhado em um frasco contendo hexano (1mL). Foram obtidos cinco extratos de cada espécie e sexo, e separado em dois grupos de idade com 2 a 4 dias na fase adulta e com 14 a 16 dias na fase adulta. Os extratos foram pré-concentrados para 50 µL e analisados por GC-FID e GC-MS. Os resultados obtidos não mostraram diferenças no perfil qualitativo de hidrocarbonetos entre machos e fêmeas de *E. heros* e de *D. melacanthus* e nem diferenças entre as duas idades avaliadas. Foram identificados hidrocarbonetos lineares de nC_{19} a nC_{34} em ambas espécies. No entanto, nos extratos de *D. melacanthus* foram identificados dois dióis com nC_{32} e nC_{34} tanto em machos e fêmeas e em ambas idades avaliadas. Bioensaios estão sendo conduzidos para avaliar se estes dióis podem ser responsáveis pelo reconhecimento da espécie no comportamento de acasalamento.

Apoio: Cenargen e CNPq.

¹ Biologia, graduação, Universidade de Vila Velha-UVV

² Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

026 - IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE NUCLEASES INTESTINAIS DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO: UM DESAFIO PARA O SUCESSO DO RNAi NO CONTROLE DE INSETOS-PRAGA [Identification and characterization of cotton boll weevil's gut nucleases: a challenge for RNAi success in insect pest control]

Garcia, R.A.¹; Nascimento, C.D.²; Macedo, L.L.P.³; Grossi-de-Sá, M.F.⁴

O algodão é a fibra natural mais importante do mundo, sendo produzido em mais de 60 países e o Brasil é um dos maiores produtores e exportadores do mundo. Entre os insetos-pragas que devastam as plantações de algodão, o coleóptero *Anthonomus grandis* (bicudo-do-algodoeiro) é o mais destrutivo. Devido ao seu hábito endofítico e capacidade reprodutiva, o uso de inseticidas é ineficiente, ambientalmente prejudicial e possui altos custos. O desenvolvimento de novas estratégias para o controle do bicudo-do-algodoeiro tornou-se uma necessidade. O uso de RNA fita dupla (dsRNA) para silenciar expressão gênica é, atualmente, uma abordagem muito explorada para gerar plantas geneticamente modificadas resistentes a patógenos e insetos. Apesar do sucesso reportado por essa estratégia para algumas espécies de insetos-praga, a ação de ribonucleases no intestino médio do inseto continua sendo um desafio. Este trabalho tem como objetivo contribuir com o desenvolvimento de estratégias moleculares capazes de aumentar a estabilidade de dsRNAs, a fim de este ser refratário à ação de ribonucleases de *A. grandis*. Três nucleases foram identificadas no transcrito de *A. grandis* e validadas por silenciamento via microinjeção de dsRNA em insetos adultos. A expressão das nucleases foi analisada por RT-qPCR em diferentes tecidos e após o silenciamento. Ensaio para verificar a estabilidade do dsRNA foram realizados com homogenato intestinal do intestino médio anterior de *A. grandis*. O número de transcritos diminuiu consideravelmente 48 e 148 horas após a microinjeção em insetos adultos. A atividade nucleásica, capacidade de degradar tanto dsRNA quanto dsDNA, foi identificada no intestino de *A. grandis*, mostrando redução significativa 48 horas após a microinjeção. O desenvolvimento de estratégias capazes de inibir RNases e, assim, aumentar a biodisponibilidade do dsRNA são promissoras para a aplicabilidade do RNAi em eventos de algodão GM para o controle do bicudo-do-algodoeiro.

Apoio: Cenargen, Capes e UnB.

¹ Biologia Molecular, pós-graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Ciências Genômicas e Biotecnologia, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Ciências Genômicas e Biotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

027 - IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE HELIOTÍNIOS UTILIZANDO MARCADORES MITOCONDRIAL E NUCLEAR [Molecular identification of Heliothinae using mitochondrial and nuclear markers]

Sabiá Júnior, E.F.¹; Queiroz, P.R.M.²; Martins, E.S.²; Monnerat, R.G.³

As pragas mais importantes da subfamília Heliothinae para a agricultura brasileira são as espécies *Helicoverpa armigera*, *H. zea*, *Heliothis virescens*, altamente destrutivas devido as suas características biológicas que lhes permitem sobreviver em ambientes instáveis e adaptar-se as mudanças sazonais do clima. A ocorrência dessas espécies na região cotonicultora do Brasil causou sérios prejuízos econômicos e estima-se que o dano causado por *H. armigera* ultrapasse US\$ 5 bilhões no mundo e R\$ 2 bilhões no Brasil. A taxonomia desse gênero é complexa e requer conhecimentos muito específicos de suas estruturas morfológicas e reprodutivas, muitas vezes tornando-se um entrave na identificação dessas espécies. O objetivo deste trabalho foi identificar por meio de marcadores moleculares mitocondrial e nuclear as espécies de heliotínios ocorrendo nas regiões produtoras de algodão do Brasil. Indivíduos de *H. armigera*, *H. zea* e *He. virescens* foram macerados em tampão de extração e o DNA obtido foi submetido a PCR com iniciadores específicos para a subunidade I do gene citocromo oxidase (COI). Além desse gene mitocondrial, o gene nuclear do fator de alongamento I (EF-1) também foi utilizado. O produto de PCR do gene COI foi digerido com a enzima de restrição *BFal*, enquanto o produto do gene EF-1 foi digerido com *EcoRV*. A amplificação da região corresponde ao gene *citocromo oxidase* produziu um fragmento de 615 pb que após digestão gerou dois perfis de restrição. Pôde-se observar o padrão de clivagem de 294 pb e 321 pb para *H. armigera*, enquanto para *H. zea* e *H. virescens* não houve digestão. Já para o gene nuclear, houve digestão do DNA apenas para *He. Virescens* gerando o padrão de clivagem de 964pb e 142pb, enquanto as espécies de *Helicoverpa* mantiveram o fragmento sem digestão, sendo possível assim, discernir as espécies por meio de uma chave de identificação dicotômica molecular. Esses resultados ajudarão no monitoramento de populações de *Helicoverpa*, no estudo da dispersão das populações e no controle da entrada de novas lagartas em regiões agrícolas do Brasil.

¹ Biologia Molecular, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

³ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

028 - IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DO BIÓTIPO B DE *Bemisia tabaci* (HEMIPTERA: ALEYRODIDAE) EM ÁREAS PRODUTORAS DE ALGODÃO NO ESTADO DO MATO GROSSO [Molecular identification of the *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype B cotton producing areas in the State of Mato Grosso]

Rodrigues, R.C.R.¹; Martins, E.S.²; Lima, A.A.³; Ferreira, B.C.³; Soares, C.M.S.⁴; Queiroz, P.R.M.²; Monnerat, R.G.⁵

A mosca-branca (*Bemisia tabaci*) (Hemiptera: Aleyrodidae) é uma importante praga agrícola que apresenta vários biótipos de difícil identificação morfológica e de ampla distribuição geográfica. *B. tabaci* tem uma longa história como praga e vetor de vírus de importantes culturas comerciais em todo o mundo. Dentre os biótipos, o tipo B é o mais agressivo para a agricultura. Baseado na análise do gene mitocondrial citocromo oxidase I foi proposto que *B. tabaci* possui 24 espécies organizadas em 11 grupos. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi identificar o biótipo predominante de *B. tabaci* na região, pelo perfil mitocondrial gerado por PCR-RFLP. Para isso, foram coletados indivíduos de mosca branca ao longo das cinco principais regiões produtoras de algodão do Mato Grosso no ano de 2014. O DNA total de cada indivíduo foi extraído para então serem feitas PCR utilizando iniciadores específicos para a subunidade I do gene da citocromo oxidase (COI). Em seguida, os produtos amplificados foram digeridos gerando um perfil de restrição. Pôde-se observar somente o padrão típico de clivagem para o biótipo B de mosca branca nas áreas produtoras de algodão do Mato Grosso. Por tanto, esses resultados ajudarão no monitoramento de populações de mosca branca, no estudo da dispersão das populações e no controle da entrada de novos biótipos de mosca branca em regiões agrícolas do Brasil.

Apoio: Cenargen, CNPq e IMAmt.

¹ Biologia, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

² Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

³ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

⁴ Entomologia, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

⁵ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

029 - IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DE LEPIDÓPTEROS OCORRENDO NA CULTURA DA SOJA [Morphological identification of moths in soybean crops]

Santiago, S.D.¹; Viana, M.C.²; Silva, M.L.³; Benito, N.P.³

As espécies de lepidópteros da Família Noctuidae estão entre as principais pragas de importância econômica. A introdução da espécie *Helicoverpa armigera* no Brasil, considerada uma espécie quarentenária para o país até o ano de 2012, gerou perdas na agricultura de mais de um bilhão de reais na safra 2012/2013. A introdução desta espécie fez surgir novos desafios para o manejo das pragas em diferentes culturas (algodão, milho, soja), sendo um dos pontos cruciais para o efetivo controle desta praga a correta identificação da espécie e sua diferenciação de todas as outras espécies que ocorrem nas lavouras. A identificação morfológica é feita por meio da análise das genitálias do adulto. Com o objetivo de reconhecer as espécies de importância agrícola que ocorrem na cultura da soja, foi realizada a dissecação do abdômen dos lepidópteros adultos e comparada a morfologia das genitálias. Os espécimes foram coletados em uma lavoura de soja no município de Buritis-MG entre os meses de dezembro a março. Foram coletadas lagartas através do método do pano de batida e estas foram criadas no laboratório até emergirem os adultos. Os abdomens foram extraídos e colocados em álcool em duas concentrações diferentes (70% e 100%) para desidratação e, posteriormente, submersos em solução de hidróxido de potássio 10% aquecido a 50°C para diafanização. Em seguida os abdomens foram transferidos para álcool absoluto para a extração e limpeza das genitálias com auxílio de estiletes. Algumas genitálias foram preservadas em álcool 70%, enquanto outras foram montadas em lâmina com meio Hoyer. Foram utilizadas diferentes características para a separação das espécies tanto das genitálias montadas em lâmina, quanto as preservadas em álcool: *aedeagus*, *sacculus*, *corona*, *juxta*, *ampulla* e *vinculum* em machos e *papillae anales*, placa genital, *cervix bursae*, *signum* da *bursae copulatrix*, *appendix bursae* em fêmeas. As espécies identificadas foram: *Helicoverpa armigera*, *Heliothis virescens*, *Chrysodeixis includens* e *Spodoptera frugiperda*.

Apoio: Embrapa e Grupo Agrosalgueiro.

¹ Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

³ Entomologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

030 - INFLUÊNCIA DE PRÁTICAS AGROECOLÓGICAS LOCAIS E DA PAISAGEM DO ENTORNO NA FLUTUAÇÃO POPULACIONAL DA MOSCA-BRANCA *Bemisia tabaci* NO DISTRITO FEDERAL [Influence of local agroecological practices and around landscape on population fluctuation of *Bemisia tabaci* in Federal District]

Harterreiten-Souza, É.S.¹; Araujo, L.K.P.²; Pires, C.S.S.³; Pujol-Luz, J.R.⁴; Sujii, E.R.³

Bemisia tabaci (Hemiptera: Aleyrodidae) se destaca como importante praga de diversas culturas e é responsável por grandes perdas da produtividade. No entanto, as variações na abundância em diferentes locais e épocas do ano sugerem que fatores locais possam estar influenciando suas populações. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de práticas agroecológicas locais e da paisagem do entorno na flutuação populacional de *B. tabaci* no DF. O estudo foi realizado em diferentes habitats (hortaliças, pousio, agroflorestal e vegetação nativa) de cinco propriedades rurais de produção de hortaliças orgânicas. Em cada habitat foram instaladas quatro armadilhas adesivas amarelas (permanecendo no local por 72 horas), mensalmente, durante os meses de setembro/2013 a abril/2014. Foram coletados 424.430 adultos de *B. tabaci* nas cinco propriedades. A abundância média (\pm erro padrão), por armadilha, foi comparada entre habitats, e maiores valores foram encontrados em cultivos de hortaliças (1.316 ± 431) e pousio (1.311 ± 431) quando comparadas com as agroflorestas ($2 \pm 0,4$) e vegetação nativa ($28 \pm 8,6$) (KW- $H_{3;544}=27,89$; $P<0,000$). Ao comparar a abundância entre propriedades, verificou-se que essa diferença se deve apenas aos talhões de hortaliças e pousio pertencentes às propriedades localizadas nos núcleos rurais de Lamarão (49,1%) e Rajadinha (50%), que diferiram das demais propriedades (KW- $H_{4;544}=41,11$; $P<0,000$). Quando avaliada a abundância média entre os meses, diferenças significativas foram encontradas somente em fevereiro/2014 (5.941 ± 1.291) nas propriedades (KW- $H_{7;544}=221,17$; $P<0,000$). Sistemas orgânicos de produção de hortaliças produzem populações mais equilibradas com menor flutuação de *B. tabaci* devido às práticas de diversificação da vegetação local e do entorno da propriedade. No entanto, verificou-se que elas podem ser afetadas quando estão inseridas próximas a região produtora de grandes culturas. Desta forma, sugere-se a implantação de faixas agroflorestais e manutenção de faixas de vegetação nativa circundando as propriedades de base ecológica devido à baixa incidência populacional da praga nestes habitats e por apresentarem múltiplas funcionalidades no sistema, como por exemplo, servindo como barreiras de proteção contra a dispersão da praga e local de refúgio para os inimigos naturais.

Apoio: Cenargen, CNPq e Capes/UnB.

¹ Ecologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

³ Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Entomologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

031 - INSEMINAÇÃO ARTIFICIAL COM SÊMEN CONGELADO EM OVINOS UTILIZANDO PROTOCOLOS A BASE DE PROSTAGLANDINA [Artificial insemination in sheep with frozen semen using prostaglandin based protocols]

Miranda, V.O.¹; Silva, T.A.S.N.²; Dode, M.A.N.³; Silva, B.D.M.³

Com a intensa diminuição do espaço disponível à criação de animais de produção é imprescindível o uso de tecnologias que permitam manipulação no ciclo reprodutivo dos ovinos, isto permite o melhor uso da capacidade produtiva destes animais. Uma ótima alternativa para esta tecnologia é o emprego de protocolos sem a utilização de hormônios esteroides, sendo a PGF2 α e o GnRH os de melhor responsividade. O objetivo do trabalho foi avaliar a taxa de prenhes em ovelhas sincronizadas com protocolos a base de PGF2 α e PGF2 α associada ao GnRH, comparadas com protocolo controle a base de pessário vaginal com Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) e eCG. Foram inseminadas 279 ovelhas da raça Ideal, criadas em sistema extensivo no Rio Grande do Sul. Estas foram divididas em três grupos experimentais, sendo o primeiro protocolo (P1, n=99) com duas aplicações de 0,530 μ g PGF2 α (Sincrocio®, Cloprostenol sódico, Ouro Fino, Brasil) em intervalo de nove dias (D0 e D9). No protocolo com PGF2 α associada ao GnRH (P2, n=92) foram duas aplicações de 0,530 μ g PGF2 α (Sincrocio®, Cloprostenol sódico, Ouro Fino, Brasil) com nove dias de intervalo (D0 e D9) após 24h da segunda aplicação foi administrado 25 μ g de lecorelina, agonista de GnRH (Gestran Plus®, Tecnopec, ARSA S. R. L., Argentina). Comparados com o protocolo controle (P3, n=88) no qual utilizou pessário vaginal contendo MAP (Progespon®- Esponjas Vaginais com Acetato de Medroxiprogesterona, Coopers, Argentina) que permaneceu por 12 dias, na retirada do MAP (D12) foi aplicado 250 UI de eCG (Novormon®- Gonadotrofina Coriônica Equina, Coopers, Argentina). A inseminação artificial em tempo fixo (IATF) por laparoscopia foi realizada após 54 horas do final dos protocolos, considerados D9 e D12 respectivamente. Os animais estavam em jejum prévio e sedados, sendo inseminados com sêmen congelado à concentração de 100 x 10⁶ espermatozoides por palheta. Para análise estatística foi utilizado Modelo Linear Generalizado e teste de Dunnet, considerando nível de significância P<0,05. A taxa de prenhes foi avaliada por ultrassonografia após 45 dias da IATF. O protocolo controle (P3) foi o que apresentou melhor taxa de prenhes (P < 0,05) 31,82%, enquanto os protocolos P1 e P2 não diferiram entre si (P>0,05) 16,16% e 13,04%, respectivamente. Sendo assim conclui-se que o protocolo controle, sendo ele o mais utilizado a campo, é o que permite melhores resultados com sêmen congelado em relação ao uso de protocolos somente a base de PGF2 α ou mesmo aqueles que associam PGF2 α e GnRH.

Apoio: Capes e Embrapa Cenargen.

¹ Medicina Veterinária, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Medicina Veterinária, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

032 - INTERAÇÃO ENTRE PERCEVEJOS (HETEROPTERA: PENTATOMIDAE) E OS PARASITÓIDES DE OVOS *Telenomus podisi* E *Trissolcus basal*s (HYMENOPTERA: PLATYGASTRIDAE) MEDIADA POR RASTROS QUÍMICOS

Lagôa, A.C.G.¹; Blassioli-Moraes, M.C.²; Borges, M.³; Laumann, R.A.³

Parasitóides de ovos da família Platygastriidae (Hymenoptera) são os maiores agentes do controle biológico de percevejos pragas da soja. Eles são atraídos para seus hospedeiros através de muitos estímulos químicos e visuais. Entre esses estímulos, os rastros químicos originados no movimento de seus hospedeiros são importantes durante o forrageamento dos parasitoides. O objetivo deste trabalho foi verificar se os parasitoides *Trissolcus basal*s e *Telenomus podisi* são capazes de reconhecer os rastros químicos de diferentes espécies de percevejos (Heteroptera: Pentatomidae), e também mostrar preferência por traços de seus hospedeiros preferenciais. Para tanto, os percevejos *Nezara viridula*, *Euschistus heros* e *Dichelops melacanthus* foram colocados sobre placas de vidro (superfície da arena), fisicamente dividida em duas partes, durante duas horas, para depositarem seus rastros químicos e contrastar posteriormente a preferência dos parasitoides pelos traços das diferentes espécies de percevejo. Assim, três combinações diferentes de tratamento foram feitas: rastros de *E. heros* vs. rastros de *N. viridula*; rastros de *E. heros* vs. rastros de *D. melacanthus*; e rastros de *N. viridula* vs. rastros de *D. melacanthus*. Após esse período, os parasitoides foram liberados separadamente sobre os tratamentos. O comportamento dos parasitoides foi avaliado utilizando-se o software SACAM. Verificou-se que os parasitoides *Te. podisi* e *Tr. basal*s identificaram e diferenciaram os rastros químicos dos diferentes hospedeiros. No entanto, *Tr. basal*s distinguiu e preferiu os rastros químicos de *N. viridula*, enquanto *Te. podisi* distinguiu e preferiu os rastros químicos de *E. heros*. O parasitoide passa muito mais tempo sobre os rastros de seu hospedeiro preferencial, a trilha resultante do forrageamento é mais intrincada e a tortuosidade do movimento também é maior. Este padrão foi observado tanto para *Tr. basal*s como para *Te. podisi*. Assim, concluiu-se que os parasitóides são capazes de reconhecer e diferenciar os rastros químicos de diferentes espécies de percevejos, como também mostrar preferência por rastros de seus hospedeiros preferenciais.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Zoologia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

033 - O PAPEL DOS MASTOPARANOS COMO IMUNOMODULADORES DA RESPOSTA HUMORAL AOS IMUNÓGENOS DA PEÇONHA DE VESPAS [The role of mastoparans as immunomodulators of humoral responses against immunogens from wasp venom]

Cardozo Filho, J.L.¹; Freitas Filho, E.G.²; Jamur, M.C.³; Silva, L.P.⁴

As espécies do *táxon* Aculeta (Himenoptera) são caracterizadas pelo acúleo inoculador de peçonha e pela injúria peçonhenta infligida às vítimas. As reações alérgicas generalizadas de tipo imediato são orquestradas principalmente por mastócitos e basófilos ativados por imunógenos da peçonha via receptor de IgE. Especulou-se que os mastoparanos, tetradecapeptídeos polibásicos isolados da peçonha de vespas, podem influenciar a resposta imune humoral aos imunógenos mediante a ativação dos mastócitos. Espécimes de *Synoea cyanea* foram capturados e submetidos à extração da peçonha. Os componentes peptídicos da peçonha foram separados e purificados por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (RP-HPLC). A estrutura primária de mastoparanos da espécie *S. cyanea* foi elucidada por espectrometria de massa e química de Edman. A síntese manual em fase sólida dos peptídeos foi sucedida pela purificação dos peptídeos por RP-HPLC. Avaliou-se a liberação de componentes pré-formados e a indução da ativação de fatores de transcrição induzida pelos mastoparanos em mastócitos mantidos em cultura. Este trabalho culminou na caracterização estrutural de dois peptídeos da família dos mastoparanos isolados da peçonha de *S. cyanea*, SynC MP I e SynC MP II, cujas estruturas primárias são INWLKLGQKIISAL-NH₂ e INWFKLGQKIISAL-NH₂, respectivamente. SynC MP I [7,5 µM] e SynC MP II [7,5 µM] promoveram a liberação de β-hexosaminidase de mastócitos (10,8% e 7,4%, respectivamente) sem que se observasse a redução da viabilidade celular a níveis inferiores a 90%. Ao reduzir a concentração dos peptídeos de [7,5 µM] para [1 µM], não houve liberação detectável de β-hexosaminidase. A ativação de NFκB por SynC MP I [7,5 µM] (11,87%) e SynC MP II [7,5 µM] (9,12%) não foi significativamente afetada face à redução da concentração dos peptídeos para [1 µM] (10% e 6,62%, SynC MP I e SynC MP II, respectivamente). Não foi constatada a indução da ativação de NFAT por nenhum dos peptídeos. O perfil da degranulação provocada pelos mastoparanos isolados de *S. cyanea* em mastócitos reforçam as características já descritas desta família de peptídeos. A capacidade dos mastoparanos de induzir a ativação de NFκB em mastócito, mesmo a baixas concentrações, abre precedentes para a investigação do papel desses peptídeos na modulação *in vivo* da resposta humoral aos imunógenos da peçonha de vespas.

Apoio: Cenargen, Capes e CNPq/UnB.

¹ Biologia Animal, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Celular e Molecular, mestrado, Universidade de São Paulo-USP

³ Biologia Celular e Molecular, Universidade de São Paulo-USP

⁴ Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

034 - ORIFÍCIOS EM FRUTOS DE MOGNO COMO SINAL DA PRESENÇA DE *Hypsipyla grandella* ZELLER (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) [Holes in fruits of mahogany as a sign of the presence of *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)]

Castro, M.T.¹; Montalvão, S.C.L.²; Monnerat, R.G.³

A presença de orifícios em frutos é o sinal de infestação de mais fácil reconhecimento do ataque de insetos. Portanto, os orifícios são referidos como um sinal relevante na avaliação da ocorrência da predação, podendo indicar o ponto de postura de ovos, de exclusão de excrementos do inseto durante o seu desenvolvimento no interior do fruto ou ainda o local de emergência do adulto. O ataque da *Hypsipyla grandella* em frutos de mogno foi pouco estudado e analisado, o que resulta em uma lacuna quanto à dinâmica de predação desse inseto em árvores. Esse trabalho teve como objetivo estudar aspectos relacionados aos orifícios criados pela *Hypsipyla grandella* em frutos de mogno, tais como formatos, tamanhos e observações quanto à presença de pupários, lagartas e excrementos próximos a eles. Para tanto, foram coletados aleatoriamente 200 frutos de mogno em Brasília, Distrito Federal, e posteriormente foi feita a contagem do número e dimensionamento de orifícios e observação de excrementos e/ou pupários próximos. Dos 200 frutos coletados, 190 apresentaram orifícios feitos pelas lagartas, utilizados tanto para a sua entrada quanto para a sua saída quando adulto. A maioria dos frutos apresentou apenas um único orifício (81%) e foi encontrado até cinco orifícios em um único fruto. Os orifícios apresentaram tamanhos e formatos variados, com média de 0,6 cm de diâmetro e em sua maioria de formato circular. Muitas vezes foi possível observar excrementos, teia e goma próximos a esses orifícios, indicando a presença do inseto no interior dos frutos. Portanto, a visualização desse sinal é pela primeira vez estudada e relatada e é uma importante ferramenta para a verificação da ocorrência do inseto em árvores de mogno.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

035 - PADRÃO DE METILAÇÃO E HIDROXIMETILAÇÃO GLOBAL EM LEUCÓCITOS E TECIDOS PLACENTÁRIOS DE BEZERROS RECÉM-NASCIDOS
[Global methylation pattern of leukocytes and placental tissues in calves]

Mendonça, A.S.¹; Franco, M.M.²

A metilação do DNA é um dos principais eventos que ocorrem durante as etapas de reprogramação epigenética, regulando a expressão gênica e caracterizada pela presença da base 5-metilcitosina (5-mC) no DNA. Mais recentemente, a hidroximetilação do DNA foi caracterizada como mais um evento bioquímico participando da estrutura da molécula. Sua principal característica é a adição de um grupo hidroxila na extremidade 5' da 5-mC, formando a base 5-hidroximetilcitosina (5-hmC), sendo este um provável produto intermediário do processo de desmetilação passiva do DNA. Objetivou-se neste trabalho caracterizar o padrão de metilação e hidroximetilação global do DNA em bezerros Nelore recém-nascidos, baseando-se no fato de que a relação entre 5-mC e 5-hmC parece ter um importante papel na regulação gênica. Amostras de sangue (n=19) e tecido placentário (membrana alantoidiana e cotilédone; n=12) foram coletas logo após o parto e armazenadas a -20°C. O DNA foi extraído utilizando o *QIAamp DNA Blood Mini Kit* (QIAGEN) e as taxas de 5-mC e 5-hmC do DNA foram quantificadas usando os *MethylFlash Methylated* e *MethylFlash Hydroxymethylated DNA Quantification Kits* (EPIGENTEK), respectivamente. As taxas médias de DNA metilado em sangue, membrana alantoidiana e cotilédone foram de 12,68 ± 6,75%, 17,26 ± 15,07% e 12,94 ± 5,49%, respectivamente, e as de DNA hidroximetilado foram de 3,47 ± 1,93%, 2,86 ± 3,16% e 2,43 ± 2,12%, respectivamente, não sendo observadas diferenças estatisticamente significativas entre os diferentes tecidos analisados. Além disso, foi realizada uma análise entre sexos. As taxas médias de 5-mC, utilizando a média dos resultados de todos os tecidos analisados, de machos e fêmeas foram de 12,24±6,43% e 15,87±11,88%, respectivamente, enquanto as de 5-hmC foram de 3,12 ± 2,06% e 2,94 ± 2,60%, respectivamente, sem diferenças estatisticamente significativas. A taxa de 5-hmC em cotilédones placentários de machos foi estatisticamente maior que em fêmeas, sendo a única análise significativa encontrada no estudo. Não foi possível ainda estabelecer relações entre as taxas de 5-mC e 5-hmC, sendo necessários outros estudos para verificar se 5-hmC é uma base proveniente de um processo de desmetilação do DNA. Deve-se ressaltar o pioneirismo do trabalho na espécie bovina e a importância do conhecimento desses eventos na regulação epigenética e na expressão gênica.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e Capes/UFU.

¹ Genética e Bioquímica, doutorado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

² Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

036 - PADRÃO DE METILAÇÃO PARA O GENE IGF2 EM CÉLULAS DO TROFOBlasto DE EMBRIÕES BOVINOS EM D14: EFEITO DO CULTIVO IN VITRO [Methylation pattern of igf2 gene in trophoblast cells from d14 bovine embryos: effect of *in vitro* culture]

Carvalho, J.O.¹; Franco, M.M.²; Dode, M.A.N.²

O gene IGF2 é um importante gene imprinted que está relacionado com desenvolvimento embrionário, manutenção da gestação e placentação, é o gene IGF2 e alterações em seu padrão de metilação vem sendo associado à técnicas de reprodução assistida. Desta forma, este trabalho objetivou avaliar o efeito do cultivo in vitro até o dia (D) 7 de desenvolvimento no padrão de metilação da região diferencialmente metilada (DMR) do éxon 10 do gene IGF2, de embriões bovinos em D14 de desenvolvimento. Foram utilizados embriões produzidos in vitro a partir de ovócitos provenientes de ovários de abatedouro. No D7 de cultivo, blastocistos grau 1 foram transferidos em número de 10 para o corno uterino de receptoras previamente sincronizadas (grupo vitro/vivo). Como controle, foram utilizados embriões coletados no dia 7 pós-inseminação de doadoras superestimuladas, com os blastocistos de grau 1 sendo transferidos em número de 10 para o corno de receptoras sincronizadas (grupo vivo/vivo). Embriões de ambos os grupos foram coletados em D14, sendo realizada uma biópsia do trofoblasto para determinação do sexo e avaliação do padrão de metilação do gene IGF2. Após a sexagem, DNA genômico de embriões machos foi utilizado e o padrão de metilação avaliado pela técnica de bisulfito de sódio. O padrão de metilação foi avaliado individualmente, sendo cada embrião (vitro/vivo=4 e vivo/vivo=5) considerado como uma repetição, com sequenciamento de aproximadamente 8 clones por embrião. O padrão de metilação do DNA foi semelhante entre os grupos vivo/vivo (n=29 clones, 28,3±3,2%) e vitro/vivo (n=27 clones, 22,7±2,9%). Como já é conhecido, esta região encontra-se hipermetilada em espermatozoides e hipometilada em ovócitos, sendo esperados valores próximos a 50% de metilação em células somáticas. Esses dados demonstram menor porcentagem de metilação desta região, diferindo de um padrão imprinted esperado. Este trabalho é o primeiro relato descrevendo o padrão de metilação para esta região em embriões bovinos no dia 14 de desenvolvimento. Conclui-se que o cultivo embrionário in vitro até o dia 7 de desenvolvimento não afetou o padrão de metilação da DMR no éxon 10 do gene IGF2 em embrião no D14.

Apoio: CNPq/FAP-DF.

¹ Medicina Veterinária, doutorado, Universidade de São Paulo-USP

² Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

037 - PADRÕES DE METILAÇÃO E HIDROXIMETILAÇÃO GLOBAIS EM ESPERMATOZÓIDES DE CABEÇA E CAUDA DE EPIDÍDIMO E ESPERMATOZÓIDES DO EJACULADO DE BOVINOS DA RAÇA GIR [Global methylation and hydroxymethylation patterns of head and tail epididymis spermatozoa and ejaculated sperm from cattle]

Braga, T.F.¹; Mendonça, A.S.²; Cunha, A.T.M.³; Dode, M.A.N.⁴; Franco, M.M.⁴

A 5-metilcitosina (5mC) é formada através da ligação covalente de um grupo metil na posição 5 de uma citosina, catalisada pela ação de membros da família enzimática DNA metiltransferase (DNMT). Em mamíferos, a 5mC ocorre quase que exclusivamente em dinucleotídeos CpG, e a capacidade de estabelecer e manter os padrões de metilação do DNA são essenciais para o desenvolvimento normal. Até meados de 2009 a 5mC era a protagonista no campo da metilação do DNA. No entanto, trabalhos publicados no final do mesmo ano, relataram que a 5-hidroximetilcitosina (5hmC) é uma marca abundante em tecidos de mamíferos e que a família de enzimas TET (*ten-eleven-translocation*) dioxigenases dependentes de ferro são responsáveis pela conversão da 5mC em 5hmC. Objetivou-se neste trabalho caracterizar os padrões de metilação e hidroximetilação globais do DNA de espermatozoides de cabeça e cauda de epidídimo e espermatozoides do ejaculado em bovinos da raça Gir, baseando-se no fato de que a relação entre 5mC e 5hmC parece ter um importante papel na regulação gênica. Os espermatozoides ejaculados foram obtidos através da coleta de sêmen por eletro-ejaculação (n=5) e para obtenção dos espermatozoides de cabeça (n=5) e cauda (n=2) de epidídimo foi utilizado o método de extravazamento. A extração de DNA foi realizada pelo protocolo *Salting Out* com modificações preconizadas no Laboratório de Reprodução Animal e a metilação e hidroximetilação globais do DNA foram quantificadas pelo método colorimétrico utilizando os kits *MethylFlash™ Methylated DNA Quantification* e *MethylFlash™ Hydroxymethylated DNA Quantification*, respectivamente. As taxas médias de DNA metilado em espermatozoides de cabeça e cauda de epidídimo e espermatozoides do ejaculado foram de 43,27 (±6,84), 34,66 (±8,04) e 35,12 (±6,40) respectivamente, e as de DNA hidroximetilado foram de 13,69 (±7,22), 6,71 (±3,03) e 14,34 (±2,79) respectivamente, não havendo diferença significativa entre os diferentes tipos celulares. Os resultados mostram que as taxas de 5mC e 5hmC em espermatozoides não se alteram durante o processo de maturação e pós ejaculação.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, CNPq, Capes, FAP-DF e UnB.

¹ Ciências Animais, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Genética e Bioquímica, doutorado, Universidade Federal de Uberlândia-UFU

³ Ciências Animais, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

⁴ Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

038 - PIRAMIDAÇÃO DE GENES PARA CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* VIA RNA INTERFERENTE [Gene pyramiding for control of *Meloidogyne incognita* via RNA interference]

Borges, R.A.K.¹; Lourenço, I.T.²; Fragoso, R.R.³; Grossi-de-Sá, M.F.²; Albuquerque, E.V.S.²

O fitonematóide causador da galha *Meloidogyne incognita* é uma praga que causa grandes impactos a diversas culturas agrônômicas ao redor do mundo. É um dos patógenos de maior relevância da atualidade e no Brasil causa danos a plantas de soja, café, cana-de-açúcar e muitas outras *commodities*. A pesquisa realizada no Laboratório de Interação Molecular Planta-Praga - LIMPP - Cenargen – Embrapa tem como objetivo o controle deste fitonematóide. Sequências para expressão de RNA dupla fita (dsRNA) visando o silenciamento (via RNAi) de genes-alvo essenciais ao metabolismo de *M. incognita* foram previamente validados por qPCR e bioensaios. Este trabalho consiste na junção por estratégias de cruzamentos entre plantas contendo os dois genes selecionados que apresentaram maior eficiência ao controle do *M. incognita* em plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*). A piramidação também deve causar efeito deletério aditivo e evitar o surgimento de resistência dos fitopatógenos ou compensação metabólica da planta. Foram utilizadas plantas contendo dsRNA para Isocitrato Liase (IL), que atua no ciclo do glioxilato, e para a Proteína de Choque Térmico 90 (HSP 90), que possui papel essencial no enovelamento e transporte de proteínas. Foram cruzadas plantas germinadas de sementes T3 de IL e HSP90, cujas sementes obtidas da progênie estão sendo avaliadas quanto à presença das sequências para RNAi dos dois genes de interesse e serão desafiadas por bioensaio com *M. incognita* para se verificar os possíveis efeitos aditivos da piramidação.

Apoio: Embrapa, Capes e CNPq.

¹ Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Cerrados

039 - PRODUÇÃO DE PROTEÍNA MASP2 (8x) DA ARANHA *Parawixia bistriata* EM *Escherichia coli* [Masp2 (8x) protein production from *Parawixia bistriata* spider in *Escherichia coli*]

Bastos, A.R.¹; Silveira, M.²; Michalczechen-Lacerda, V.A.³; Carrijo, J.⁴; Murad, A.M.⁵; Vianna, G.R.⁶; Rech, E.L.⁶

As teias de aranhas são muito conhecidas por suas resistências bem como pela elasticidade que possuem. No caso de aranhas da espécie *P.bistriata* as teias podem ser formadas por tipos diferentes de proteínas, dentre as quais se encontra a *Major Ampullate Spidroin2* (MaSp2). A produção de MaSp2 (16x) já demonstrou ser capaz de formar fibras sintéticas e, após a liofilização, foi possível observar estruturas globulares similares a nanopartículas. Logo, o objetivo foi construir um vetor de produção para MaSp2(8x) com produção em *E. coli*. A sequência genética contendo 8 motivos de Masp2 foi construída previamente no vetor de clonagem PBSSK+ (Stratagene) e, por meio de digestão enzimática com *Bam*HI e *Nde*I foi inserida no vetor de expressão pET19b. Para isso, os produtos da digestão enzimática foram separados por eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídio. Os fragmentos de DNA foram purificados com kit *Wizard SV gel and PCR clean up system* (Promega), quantificados em nanodrop e o vetor pET19b Masp2(8x) foi construído utilizando a enzima T4 DNA ligase (Promega) à 4 °C por toda a noite. A seguir, o volume de um microlitro da reação de ligação foi utilizado na transformação de BL21 (DE03) por choque térmico, a 42 °C por um minuto. Adicionou-se 500 µL de meio SOC e as células foram mantidas sob agitação 180 rpm à 37 °C, por duas horas. A solução bacteriana foi semeada em meio LB Agar com Ampicilina (200µg/mL) sendo mantidas à 37 °C por toda a noite. As colônias resultantes da transformação foram pré inoculadas em meio LB com antibiótico à 37 °C e 180 rpm por toda a noite. Um segundo inóculo foi realizado em 10 mL de meio LB com ampicilina e, as células foram induzidas com 1 mM de IPTG para a produção de proteína Masp2(8x) quando atingiram o crescimento de 0,6 (OD600 nm) durante 4 horas. O volume celular foi precipitado e estocado a -80°C. Para confirmar a produção de Masp2 (8x) realizou-se *Western Blot*. Os resultados da transformação foram confirmados por enzimas de restrição e por sequenciamento. O *Western Blot* foi positivo para produção da proteína Masp2(8x), pois foi constatado a presença de uma proteína próximo ao marcador de 25 kDa. Então, o próximo passo será a otimização da purificação da proteína com coluna de níquel por HPLC devido ao fato da proteína apresentar cauda de histidina. Espera-se conseguir resultados promissores com o processo de purificação da proteína, com a perspectiva de estabelecer um protocolo para formação de nanopartículas usando de proteínas de teia de aranha.

¹ Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

⁴ Ciências Genômicas e Biotecnologia, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

⁵ Ciência da Computação, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Biotecnologia e Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

040 - PROSPECÇÃO DE SEMIOQUÍMICOS E ESTUDOS COMPORTAMENTAIS DE INSETOS *Hypothenemus hampei* ASSOCIADOS A PLANTAS DE CAFÉ

Morais, S.D.M.¹; Blassioli-Moraes, M.C.²; Laumann, R.A.³; Meneguim, A.M.⁴; Borges, M.³

A broca do café, *Hypothenemus hampei* é uma das principais pragas da cultura do café em todo o mundo. Este inseto permanece a maior parte do seu ciclo de vida no interior das sementes de café o que torna muito difícil seu controle através de inseticidas, microrganismos e outros métodos comumente utilizados para o controle de pragas. Adicionalmente, das 115 espécies do gênero *Cooffea* já documentadas nenhuma apresenta resistência natural contra esta praga fato que limita o desenvolvimento de cultivares resistentes através do melhoramento clássico. Assim sendo, é necessário desenvolver métodos alternativos de controle e monitoramento dessa praga. Este trabalho tem como finalidade estudar a interação química entre o *H. hampei* e os voláteis emitidos por grãos de café sadios e brocados por conespecíficos. Para isto foram conduzidos bioensaios em olfatômetro de quatro escolhas com os voláteis emitidos por grãos de café de duas variedades, Obatã e IPR103. Foram contrastados os voláteis emitidos de sementes verdes, meio-verdes e maduras da variedade Obatã e os voláteis emitidos das sementes verdes de Obatã versus voláteis pelas sementes verdes de IPR103. Os resultados mostraram que os insetos não distinguem entre os voláteis emitidos pelas sementes com diferentes graus de maturidade, mas preferem os voláteis emitidos pelas sementes de diferentes níveis de maturidade de sementes Obatã e IPR103 em relação ao ar (Friedman test, $p=0.02181$), e não distinguem os voláteis da semente verde emitidos das duas variedades estudadas. Bioensaios com outras combinações dos voláteis das sementes estão sendo conduzidos e estudos para identificar o perfil de voláteis das sementes para tentar elucidar o porquê destas preferências.

Apoio: Cenargen, CNPq-PIBIC, Embrapa, IAPAR e FAP-DF.

¹ Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Ciências Agrárias, doutorado, Instituto Agrônomo do Paraná-IAPAR

041 - RECONHECIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE ÁREAS DE REFÚGIO DO BICUDO-DO-ALGODOEIRO EM PROPRIEDADES PRODUTORAS DE ALGODÃO NO MUNICÍPIO DE LUZIÂNIA, GOIÁS [Recognition and characterization of refuge for the boll weevil in cotton producing properties in Luziânia, State of Goiás]

Carvalho, A.A.¹; Pimenta, M.²; Sousa, A.A.T.C.³; Souza, L.M.⁴; Sujii, E.R.⁵; Pires, C.S.S.⁵

O reconhecimento das estratégias utilizadas pelos adultos do bicudo do algodoeiro, *Anthonomus grandis*, para manterem-se no ambiente é um importante passo para entender o padrão de dispersão dos adultos durante a safra e entressafra e principalmente durante o início da colonização das plantas de algodoeiro. Além da abordagem em nível de paisagem, a caracterização *in loco* permite a identificação de características determinantes do ambiente que tornam algumas áreas como pontos de entrada da praga na cultura. Dados da população de bicudos obtidos através armadilhas iscadas com feromônio mantidas no entorno das áreas de plantio, instaladas em uma propriedade produtora de algodoeiro em Luziânia-GO foram utilizados para determinar os possíveis locais de entrada na cultura. Os dados utilizados compreendem as safras de 2007/2008 à 2012/2013. Vinte pontos dentro da mesma paisagem e distantes no mínimo 500 metros entre si, foram visitados e áreas identificadas como locais de refúgio do bicudo durante a entressafra foram caracterizadas quanto à profundidade e ao tipo de extrato herbáceo e cobertura vegetal do solo (serrapilheira), uso do solo e tipo fitofisionômico predominante no entorno das armadilhas e altitude. A maior parte dos pontos de armadilhamento com alta densidade de bicudos visitados (70%) tinha em seu entorno vegetações naturais de mata (1), cerrado (5) e de Vereda (8). Todos estes pontos apresentavam elevada umidade e estavam próximo a um curso d'água ou reservatório. Em geral a profundidade média da serrapilheira das áreas de borda eram de 6,75 cm, com frequente presença de gramíneas em faixas que variavam de 25 a 200 metros. A altitude das áreas avaliadas variaram de 950 a 1.013 metros. As informações geradas serão norteadoras de futuras atividades de monitoramento das variáveis ambientais das rotas de entrada do bicudo, necessárias para construção de modelos de distribuição da praga e que subsidiarão novas propostas de manejo.

Apoio: Cenargen e Capes/PNPD.

¹ Biologia, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

² Ecologia, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Capes/PNPD

³ Agronomia, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Entomologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Ecologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

042 - RESISTÊNCIA DE *Spodoptera frugiperda* EM CULTIVO DE MILHO Cry1F

Macedo, C.L.¹; Martins, E.S.²; Queiroz, P.R.M.²; Praça, L.B.³; Soares, C.M.S.⁴; Santos, H.M.⁵; Grisi, I.G.⁶; Soberon, M.⁷; Bravo, A.⁷; Monnerat, R.G.⁸

O Brasil possui a segunda maior área cultivada do mundo com sementes geneticamente modificadas e desde 2005 cultiva plantas transgênicas resistentes a insetos. Em 2013 os produtores de milho da região de cabeceiras de Goiás, no Cerrado brasileiro, relataram que ao longo dos quatro anos em que o milho Bt expressando Cry1F vem sendo cultivado, a eficácia de controle está diminuindo obrigando-os a utilizar produtos químicos para reduzir os danos causados por *Spodoptera frugiperda*. Este trabalho teve como objetivo analisar a causa da sobrevivência de *S. frugiperda* em cultivo de milho Bt Cry1F. Foi estabelecida uma colônia de *S. frugiperda* a partir de indivíduos coletados em plantas Cry1F (SfBt) e dados de bioensaio mostraram nível de resistência dez vezes maior quando comparada com a colônia susceptível (SfLab). Ensaios de laboratório com folhas de milho Cry1F mostraram que em contraste com a população SfLab, larvas da população SfBt foram capazes de sobreviver quando alimentadas com as mesmas. A população SfBt foi mantida sem pressão de seleção por oito gerações e manteve altos níveis de resistência à toxina Cry1F. Bioensaios realizados com as toxinas Cry1Aa, Cry1Ab e Cry1Ac mostraram que a população resistente a Cry1F também estava resistente a essas toxinas. Ensaios de ligação e competição por receptores do intestino médio dos insetos confirmaram que essas toxinas dividem os mesmos sítios e que a resistência a Cry1F é cruzada com Cry1Aa, Cry1Ab e Cry1Ac. Os resultados obtidos nos bioensaios com as toxinas da família Cry2A não apresentaram diferenças entre as populações resistente e susceptível e os ensaios de ligação mostraram não haver competição com os sítios de ligação da toxina Cry1F. Esses dados alertam sobre a presença de resistência em campo para a toxina Cry1Fa na lagarta do cartucho do milho e é uma grave advertência para que medidas de monitoramento sejam tomadas para equacionamento do problema.

¹ Biologia Microbiana, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

³ Agronomia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Entomologia, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

⁵ Pedagogia, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Medicina Veterinária, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷ Biologia, Ph.D., Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca-Morelos

⁸ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

043 - SÍNTESE DO (*E*)- β -OCIMENO, UM DOS COMPONENTES DO FEROMÔNIO DE AGREGAÇÃO DO *Alphitobius diaperinus* (COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE)
[Synthesis of (*E*)- β -ocimene, one component of the aggregation pheromone of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae)]

Freitas, D.S.¹; Hassemer, M.J.²; Oliveira, M.W.M.³; Borges, M.⁴; Laumann, R.A.⁴; Blassioli-Moraes, M.C.⁵

O (*E*)-3,7-dimetilocta-1,3,6-trieno ((*E*)- β -ocimeno) é um dos componentes do feromônio de agregação do *Alphitobius diaperinus* identificado na população brasileira, que é composto por seis compostos, (*R*)-limoneno, (*E*)- β -ocimeno, 2-nonano, (*S*)-linalol, (*R*)-dauceno e um sesquiterpeno. O (*E*)- β -ocimeno não é disponível comercialmente, com isso, o objetivo deste trabalho foi sintetizar este composto com alta pureza e quantidade suficiente para que seja utilizado em bioensaios comportamentais em laboratório e no campo. O (*E*)- β -ocimeno foi sintetizado utilizando uma rota sintética já conhecida de três etapas: a reação de Wittig usando brometo de metiltrifenilfosfina e (*E*)-etil-3-metil-4-oxo-2-butanoato gerou (*E*)-etil-3-metilpenta-2,4-dienoato, que foi reduzido com LiAlH₄ e convertido em brometo usando CBr₄ e PPh₃. Finalmente, por meio de uma reação de acoplamento de Grignard usando brometo de 2-metil-propenilmagnésio sob catálise de Li₂CuCl₄ o produto desejado (*E*)- β -ocimeno foi obtido. Para o teste de atividade biológica do composto, bioensaios em olfatômetros em “Y” foram conduzidos usando adultos de *A. diaperinus*. As análises em GC-DIC indicaram 56% de rendimento total e uma pureza isomérica de 96% do isômero (*E*). Os bioensaios em olfatômetro mostraram que adultos de *A. diaperinus* responderam à mistura sintética contendo o composto (*E*)- β -ocimeno 96% e quando esse composto é removido da mistura o inseto não é atraído. *A. Diaperinus* respondeu em olfatometria para a mistura dos compostos, outros ensaios estão sendo conduzidos para avaliar se o *A. diaperinus* é capaz de distinguir entre os isômeros (*E*) e (*Z*)- β -ocimeno na mistura do feromônio de agregação

Apoio: Embrapa/Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Química, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Zoologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Química, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Ecologia Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

044 - USO DO ACTH COMO ALTERNATIVA DE SUPLEMENTAÇÃO HORMONAL NA MATURAÇÃO *IN VITRO* DE OVÓCITOS BOVINOS [Alternative use of acth in hormone supplementation on *in vitro* maturation of bovine oocytes]

Leme, L.O.¹; Abreu, A.D.¹; Silva, L.P.²; Dode, M.A.N.³

O FSH é utilizado para estimular o desenvolvimento folicular em protocolos de superestimulação ovariana. *In vitro*, esse hormônio é usado como promotor da maturação e indutor da expansão das células do *cumulus*. Existe uma grande variação na resposta superovulatória quando diferentes produtos são utilizados. Visando avaliar as possíveis diferenças nos perfis moleculares entre produtos, foram comparados o *Folltropin-V* (84% FSH + 16% LH, extraído de pituitária suína, 400 mg, *Bioniche*) e o FSH Sigma (extraído da pituitária suína, 50 UI, *Sigma*). As amostras hidrolisadas com tripsina foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa ultrarrápida (RP-HPLC FAST) para a separação dos componentes moleculares. Após a separação, foi realizada espectrometria de massa MALDI-TOF (MS) das frações obtidas, para avaliação da composição dos ativos por meio da detecção de íons de peptídeos das proteínas presentes. Depois, foi realizado MALDI-TOF/TOF (MS/MS), para elucidar as estruturas primárias de alguns de seus componentes (sequenciamento *de novo*). Um dos fragmentos detectados em ambos os produtos foi correspondente ao pré-prohormônio proopiomelanocortina, que é convertida no Hormônio Adrenocorticotrófico (ACTH). Com base nestes achados, foi utilizado o FSH Sigma (utilizado na MIV) e o ACTH (sintetizado e purificado em laboratório) para avaliar a ação deste hormônio na MIV de ovócitos bovinos. Os COCs obtidos de ovários de abatedouro foram selecionados e distribuídos em dois grupos: FSH (n=73), considerado controle, e ACTH (n=89). O meio MIV foi modificado para avaliar a ação isolada de cada hormônio; sendo constituído de TCM199 suplementado com PVP360 – 0,8 mg/mL, L-glutamina – 10 mg/mL e Amicacina 250 mg/mL. E, de acordo com o grupo, foi adicionado 0,01 UI/mL de FSH ou 0,007 µg/mL de ACTH. Os COCs foram maturados por 24 horas a 38,8°C e 5% CO₂. Após esse período, foram fecundados e cultivados *in vitro* até o D8 de desenvolvimento. Foram avaliadas as taxas de clivagem (D2), blastocistos (D7) e eclosão (D8), em 4 repetições e os dados analisados pelo teste *Qui-quadrado* (P<0,05). Diferenças foram detectadas nas taxas de clivagem e de blastocistos em D7 entre os tratamentos (FSH: 68,49% e 20,54%; ACTH: 42,69% e 8,98%, respectivamente). Porém, as taxas de blastocistos (23,27% - FSH; 13,48% - ACTH) e eclosão (41,17% - FSH; 25,0% - ACTH) em D8 foram semelhantes entre os grupos. Durante o período do experimento, a taxa média de blastocistos utilizando meio MIV padrão do laboratório foi 42,5% em D7. A baixa taxa de produção de embriões do grupo FSH pode ser devido ao uso do PVP como substituto ao SFB, que sendo um componente indefinido, poderia mascarar a ação dos hormônios testados. Apesar das taxas de blastocisto e eclosão no D8 não diferir do grupo com FSH, o ACTH mostrou resultado inferior nas avaliações realizadas.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Medicina Veterinária, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Reprodução Animal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Recursos Microbianos

045 - AÇÃO ANTIFÚNGICA DE PEPTÍDEOS DERIVADOS DE OSMOTINA CONTRA *Fusarium* E *Colletotrichum* [Antifungal activity of Osmotin-encrypted peptides for *Fusarium* and *Colletotrichum*]

Moreira, R.F.¹; Rodrigues, M.A.R.²; Falcão, L.L.³; Silva-Werneck, J.O.⁴; Bemquerer, M.P.⁵; Marcellino, L.H.⁴

Fungos fitopatogênicos dos gêneros *Fusarium* e *Colletotrichum* são responsáveis por grandes perdas na agricultura. Espécies de *Colletotrichum* são causadoras de antracnose em diversas plantas. No gênero *Fusarium* são encontrados fungos que atacam importantes *commodities*, por exemplo, *Fusarium solani* f.sp. *glycines*, agente causal da “síndrome da morte súbita” em soja. Alguns peptídeos antimicrobianos podem apresentar atividade antifúngica eficaz, sendo candidatos para controlar tais fungos relevantes para a agricultura. Os peptídeos são moléculas compostas por até 50 resíduos de aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas formadas por reação de condensação entre os grupos α -carboxílico e α -amino de diferentes resíduos de aminoácidos. Aqueles com atividade antimicrobiana normalmente apresentam uma estrutura anfifílica capaz de desestabilizar membranas celulares. Este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade de peptídeos derivados de osmotina, uma proteína com efeito antimicrobiano. Os peptídeos escolhidos foram dois segmentos dessa proteína, denominados de peptídeos A e B, de 3,5 KDa e 2,4 KDa, respectivamente. O peptídeo A possui cinco resíduos de aminoácidos a mais que o peptídeo B na região N-terminal, cuja sequência lhe confere uma característica mais catiônica. O efeito antimicrobiano foi avaliado pela ação dos peptídeos sobre a germinação de esporos de fungos. Os esporos foram recolhidos de culturas crescidas em placas de Petri com meio BDA (batata, dextrose e ágar) e armazenados em tampão fosfato-salino (PBS), a 4°C. A concentração e o número de esporos viáveis foram determinados por contagem em câmara de Neubauer e incubação em placas de Petri com BDA. Os bioensaios foram realizados utilizando 80 esporos viáveis em 100 μ L de PBS contendo peptídeos nas concentrações de 0 a 130 μ mol.L⁻¹, em microtubos de 1,5 mL, a 28°C, por 24 h. Após esse tratamento, os esporos foram espalhados em BDA, incubados a 28°C, por 24 e 48 h (*Fusarium solani* e *Colletotrichum*, respectivamente) e o número de colônias de micélio formadas foi avaliado. Todos os tratamentos foram feitos em triplicatas e os bioensaios realizados pelo menos duas vezes. Os resultados mostraram atividade dos peptídeos A e B sobre a germinação dos esporos. O peptídeo A apresentou uma atividade mais pronunciada do que B, particularmente para o *Fusarium*. Estudos estão sendo conduzidos para avaliação do efeito destes peptídeos sobre outros fungos fitopatogênicos, por exemplo, *Moniliophthora perniciosa*, agente causal de vassoura-de-bruxa em cacauero.

Apoio: Cenargen e CNPq (PIBIC).

¹ Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Físico-Química, Ph.D., Universidade de São Paulo-USP

³ Produção Vegetal, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Bioquímica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

046 - A INFECÇÃO DE PLANTAS DE TOMATE PELO BEGOMOVÍRUS *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) AUMENTA A EXPRESSÃO DE GENES DA VIA DE UBIQUITINAÇÃO [Infection of tomato plants by the begomovirus *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) increases the expression of ubiquitination pathway genes]

Lacerda, A.L.M.¹; Fonseca, L.N.²; Boiteux, L.S.³; Brasileiro, A.C.M.⁴; Ribeiro, S.G.⁵

A ubiquitinação é uma modificação pós-traducional que controla a degradação de proteínas em eucariotos, o substrato é marcado por moléculas de ubiquitina e degradado pelos proteassomas. A via de ubiquitinação envolve uma cascata enzimática com a participação de várias enzimas como: a E1 enzima de ativação, a E2 que é uma enzima de conjugação a ubiquitina e a E3 ubiquitina ligase que confere especificidade ao substrato. Vários vírus de plantas mostram capacidade de afetar a via de ubiquitinação, induzindo, inibindo ou modificando principalmente as enzimas E3 ligases. O objetivo desse trabalho é estudar a expressão de genes envolvidos na via de ubiquitinação durante a interação tomate-begomovirus. O sequenciamento na plataforma HiSeq2000 Illumina (mRNA-Seq) foi realizado utilizando bibliotecas de cDNA de duas linhagens de tomate, a cultivar 'Santa Clara' (genótipo suscetível) e sua linhagem isogênica 'LAM 157' (resistente) inoculadas e não inoculadas com ToCMoV (*Tomato chlorotic mottle virus*) e foram identificados sete genes que codificam proteínas relacionadas à via de ubiquitinação, sendo uma proteína de ligação a ubiquitina E3, três proteínas do tipo F-box, duas RING finger e uma enzima de conjugação a ubiquitina E2. Esses genes mostraram significativa indução da expressão (log2 fold change > 2.0) quando inoculadas com ToCMoV. Esses resultados foram confirmados por PCR em tempo real (qRT-PCR). A expressão desses genes foi avaliada em diferentes períodos (3, 6, 9, 12 e 15 dias) após a inoculação do vírus. Para confirmar e validar in vivo o envolvimento desses genes na infecção/resistência a ToCMoV o próximo passo deste estudo será o silenciamento dos genes da via de ubiquitinação (E2-UBI e Ring 5), utilizando a técnica de VIGS. Após o silenciamento as plantas serão inoculadas com ToCMoV e a acumulação viral e o fenótipo serão avaliados.

Apoio: Embrapa, INCT Planta-Praga (CNPq) e Fundo Embrapa/Monsanto.

¹ Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista CNPq

² Biotecnologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Genética e Melhoramento, Ph.D., Embrapa Hortaliças

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

047 - ANÁLISE DA SEQUÊNCIA DO GENE *p26* E SUA EVOLUÇÃO FILOGENÉTICA NA FAMÍLIA BACULOVIRIDAE [Sequence analysis of the *p26* gene and its phylogenetic evolution in the Baculoviridae family]

Craveiro, S.R.¹; Inglis, P.W.²; Grynberg, P.³; Togawa, R.C.³; Ribeiro, Z.M.A.⁴; Castro, M.E.B.⁵

Os baculovirus constituem um grupo de vírus específicos de artrópodes e apresentam nucleocapsídeos envelopados em forma de bastão oclusos em uma matriz proteica cristalina composta de poliedrina, nos nucleopolyhedrovirus (NPVs), e granulina, nos granulovirus (GVs). A família Baculoviridae é formada pelos gêneros *Alphabaculovirus* (NPVs específicos de lepidópteros), *Betabaculovirus* (GVs específicos de lepidópteros), *Gammabaculovirus* (NPVs específicos de himenópteros) e *Deltabaculovirus* (NPVs específicos de dípteros). Os *Alphabaculovirus* estão divididos nos Grupos I e II, com base nas suas proteínas de fusão do envelope viral, proteína F e GP64, respectivamente. O gene *p26* está presente em todos os *Alphabaculovirus* (Grupos I e II) e acredita-se que sua proteína (P26) esteja associada à oclusão dos vírions no poliedro. No presente estudo, a sequência nucleotídica do gene *p26* foi identificada nos genomas de todos os NPVs analisados. Ferramentas de bioinformática foram utilizadas para caracterizar a proteína P26 e elucidar a evolução do gene na família Baculoviridae. As cópias do gene *p26* encontradas nos baculovírus estão conservadas na posição adjacente ao gene *p10* (P1) em todos os NPVs contendo uma única cópia, adjacente ao gene *iap-2* (P2) em todos os NPVs do Grupo II contendo a segunda cópia do gene *p26* e adjacente aos genes *ptp1* e *ptp2* (P3) nos NPVs do Grupo I com a segunda cópia do gene *p26*. A árvore filogenética Bayesiana, obtida a partir das cópias da proteína P26 encontradas nos genomas dos NPVs, mostrou quatro clados claramente definidos (IA, IB, IIA e IIB) suportando a hipótese da ocorrência de três eventos independentes de captura do gene *p26* pelos baculovírus. A presença de sítios de clivagem dos peptídeos sinal nas sequências de aminoácidos da proteína P26 foi observada apenas nas proteínas do clado IB. Embora a função da proteína P26 não seja bem conhecida, o peptídeo sinal pode provocar diferenças na atividade das proteínas do clado IB indicando uma possível função distinta das outras classes de proteínas P26. No entanto, novos estudos são necessários para uma melhor compreensão da função dessa proteína nos baculovírus.

Apoio: Cenargen, Capes e UnB/CNPq.

¹ Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Genética Molecular, Ph.D., Pesq. Visitante, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Bioinformática, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Fitopatologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

048 - ANÁLISE FITOSSANITÁRIA DE SEMENTES DE MOGNO COLETADAS EM BRASÍLIA, DISTRITO FEDERAL [Plant health analysis of mahogany seeds collected in Brasília, Distrito Federal]

Castro, M.T.¹; Borges, R.C.F.²; Montalvão, S.C.L.²; Monnerat, R.G.³

Estudos relacionados à ocorrência e identificação de fungos em sementes florestais e sua transmissão para as plântulas no Brasil ainda são muito incipientes no Brasil. Os trabalhos em sua maioria são baseados em testes de detecção em sementes, sem a preocupação de verificar a patogenicidade em mudas. Devido à escassez desse tipo de estudo com espécies florestais, este trabalho teve como objetivo identificar e caracterizar os fungos encontrados em sementes de mogno coletadas em árvores plantadas em Brasília, Distrito Federal. O experimento consistiu de duas metodologias, a do *Blotter-test* e o método do sintoma em plântulas. Para o *Blotter-test*, foram utilizadas 192 sementes de mogno não desinfestadas, sem a ala, divididas em 12 repetições com 16 sementes cada, dispostas em papel toalha umedecido com água destilada autoclavada e acondicionadas em caixas *gerbox* previamente desinfestadas com álcool 70%. No método do sintoma em plântulas, foram plantadas, em casa de vegetação, 120 sementes de mogno sem a ala, divididas em dois blocos com 60 sementes cada. A análise ocorreu 30 dias após a semeadura. Como resultado, das 192 sementes analisadas, 20 (10,41%) apresentaram sinais da presença de fungos. Muitas sementes apresentaram mais de um fungo em sua superfície. Os fungos, em sua maioria, eram saprófitas (81,5%) e apenas dois eram potenciais como fitopatógenos (18,5%). Os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* foram os mais abundantes e são considerados como potenciais infestantes e como fungos de armazenamento. Em duas sementes foi identificado *Fusarium* sp., fungo que pode ser transmitido para as plantas via sementes, causando problemas radiculares e tombamento de plântulas em mudas. No teste em plântulas, das 120 sementes plantadas, 85 germinaram (71%), 35 não germinaram (29%) e 14 (11,6%) apresentaram sintomas e sinais de fungos nas sementes. Foram encontradas três espécies de fungos distintos, incluindo *Fusarium*. Os dois testes mostraram ser úteis para determinar a ocorrência fúngica em sementes de mogno e um fungo potencialmente patogênico foi encontrado, ressaltando a importância da análise de sanidade de sementes.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

049 - ANÁLISE PROTEÔMICA DA INTERAÇÃO *Brassica oleracea*-*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* UTILIZANDO O SISTEMA MALDI-BIOTYPER [Proteomic analysis of the interaction *Brassica oleracea*- *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* using the MALDI-Biotyper system]

Ribeiro, D.G.¹; Santos, C.²; Silva, L.P.³; Oliveira Neto, O.B.⁴; Grossi-de-Sá, M.F.⁴; Franco, O.L.⁴; Mehta, A.⁴

Brassica oleracea L. (p.e. repolho, couve-flor e brócolis) é uma espécie amplamente consumida em vários países. A podridão negra, causada pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Xcc), é a doença mais grave das brássicas, causando grande impacto na agricultura. Este estudo teve como objetivo a identificação de grupos peptídicos específicos, expressos em plantas infectadas com Xcc, através da técnica de Espectrometria de Massa utilizando Maldi-Profiling associado ao software Biotyper (Bruker Daltonics). Plantas do genótipo resistente União com 45 dias de idade foram inoculadas com Xcc ($A_{600nm} = 0.6$) e coletadas 10 dias após a inoculação. Amostras da bactéria recuperada da planta foram também analisadas em 24 horas após a inoculação. Foram utilizadas três réplicas biológicas e 12 réplicas técnicas para cada amostra. As proteínas totais foram extraídas com fenol, precipitadas com acetato de amônio em metanol e solubilizadas com ácido fórmico 70% (15 µL) e acetonitrila (15 µL). Foi aplicado na placa 1 µL de amostra com 1 µL de matriz (ácido alfa-ciano-4-hidroxicinâmico) e os espectros foram gerados utilizando um espectrômetro de massa Microflex LT (Bruker Daltonics). O dendrograma gerado para as amostras de plantas não mostrou diferenciação entre as plantas infectadas e não infectadas. Entretanto, quando as amostras de Xcc submetidas a diferentes condições de crescimento foram analisadas, uma clara distinção entre as mesmas foi obtida. A aplicação da técnica, MALDI-Profiling associado ao software Biotyper mostrou-se promissora na diferenciação de amostras submetidas a condições biológicas distintas.

Apoio: CNPq e Embrapa.

¹ Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

² Farmácia, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

050 - ATUALIZAÇÃO DO BANCO DE DADOS: “FUNGOS EM PLANTAS DO BRASIL” [Update of database: "Fungi plants in Brazil"]

Nascimento, F.B.¹; Urben, A.F.²; Simon, M.F.³; Palhares-Melo, L.A.M.⁴; Mendes, M.A.S.⁵

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia disponibiliza o site “Fungos em plantas no Brasil”, que contém 6.903 espécies de fungos relatados em 3.682 espécies de plantas no Brasil, publicados até dezembro de 2009. O presente trabalho teve por objetivo realizar extensa revisão de literatura para atualizar as informações sobre os novos registros de fungos fitopatogênicos no Brasil. O levantamento bibliográfico foi realizado em revistas nacionais, que publicaram artigos sobre o assunto nos anos de 2010 a 2012. Foram levantadas informações sobre as espécies ou gêneros de fungos, sinônimas, plantas hospedeiras (nomes científicos e comuns), distribuição geográfica e referências bibliográficas, principalmente nas revistas *Tropical Plant Pathology*, *Summa Phytopathologica* e *Bragantia*. Neste período foram revisados 475 artigos que continham informações sobre mais de 190 novos registros de fungos em plantas no Brasil. Podem ser destacados, entre estes, os primeiros relatos no Brasil das seguintes espécies de fungos e suas respectivas plantas hospedeiras: *Meliola decora* em *Areca* sp., *Puccinia nakanishikii* em *Cymbopogon citratus* e *Phyllachora serjaniicola* em *Cardiospermum grandiflorum*. As informações levantadas foram inseridas em banco de dados para posterior pesquisa via web. O acesso a essas informações facilita o trabalho de profissionais da área de fitossanidade e áreas afins, relacionadas à extensão e à pesquisa, nas atividades de inspeção, detecção, identificação e controle de doenças.

¹ Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

² Micologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Ecologia e Conservação Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Ciência da Computação, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Fitopatologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

051 - AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE DE PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO DE PLANTAS *IN VITRO* POR *Bacillus thuringiensis* [Evaluation of the ability to promote plant growth *in vitro* by *Bacillus thuringiensis*]

Caixeta, C.F.¹; Praça, L.B.²; Monnerat, R.G.³

Bacillus thuringiensis (Bt) é uma bactéria Gram positiva, aeróbica encontradas nos mais diferentes substratos como solo, água, insetos mortos, superfície da planta e nas raízes. É um importante agente de controle biológico na agricultura, pois produz durante seu desenvolvimento toxinas Cry e Cyt que são responsáveis por sua característica entomopatogênicos. Estudos recentes têm demonstrado a sua capacidade de colonizar o interior das plantas, para controlar pragas de insetos e para promover o crescimento da planta. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade do Bt na produção de sideróforos, solubilização de fosfato, fixação de nitrogênio e produção de ácido indolacético (AIA) *in vitro*. Cem estirpes de *B. thuringiensis* da Coleção de Bactérias de Invertebrados da Embrapa foram cultivadas até esporulação completa. Para a determinação da produção de sideróforos as estirpes foram inoculadas em meio King B (10x diluído) por 72 horas, sendo adicionado ao sobrenadante a solução de cromo azurol (CAS), em que a mudança da cor azul para a amarela determina o resultado positivo. As estirpes para a produção de AIA foram inoculadas em meio DYGS suplementado com triptofano por 72 horas e centrifugadas. O reagente de Salkowski foi adicionado ao sobrenadante e encubado no escuro por 30 minutos e quantificados em Picodrop a 530 nm. A solubilização de fosfato é realizada em meio GY sólido, sendo positivas as produtoras de um halo transparente e para a fixação de nitrogênio em meio TBNR os são positivas as estirpes que formarem uma película de crescimento, sendo a avaliação realizada após 10 dias de inoculação. Foram obtidos resultados positivos apenas para a produção de AIA que variou de 1,50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (estirpe 11267) a 7,44 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (estirpe 1983). *B. thuringiensis* pode ser utilizado como um agente de controle biológico de inseto-praga, mas também demonstra potencial como um promotor de crescimento.

¹ Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Agronomia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

052 - AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE PROTEÍNAS PARASPORINA DE ISOLADOS BRASILEIROS DE *Bacillus thuringiensis* EM CÉLULAS DE CÂNCER [Evaluation of Paraspurin proteins cytotoxicity from brazilian strains of *Bacillus thuringiensis* against cancer cells]

Sabiá Júnior, E.F.¹; Martins, E.S.²; Corrêa, J.R.³; Monnerat, R.G.⁴

O câncer é o principal causador de morte em países economicamente desenvolvidos e o segundo maior causador de óbitos no Brasil. Recentemente, foi relatado que a bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) amplamente conhecida por sua utilização em controle biológico de insetos, produz proteínas tóxicas a linhagens de câncer, denominadas Parasporinas. 36 estirpes de Bt do banco de bactérias entomopatogênicas da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia mostraram a presença de genes de *parasporina1* e 3. As proteínas secretadas por algumas estirpes possuíam o tamanho esperado para o grupo de Parasporina (aproximadamente 81 e 88 kDA). Esse trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade dessas proteínas para linhagens de células tumorais. As toxinas das 15 estirpes testadas não mostraram toxicidade contra as linhagens DU-145 e HeLa. Proteínas de duas estirpes mostraram toxicidade a células de câncer de mama MCF-7. Tanto as provas bioquímicas quanto moleculares mostraram a presença de estirpes de Bt que possuem e expressam o gene de *parasporina*, o qual se mostraram tóxicos para linhagens específicas de câncer. A próxima etapa do trabalho inclui o sequenciamento do gene das proteínas Parasporina, a purificação, avaliação do tipo de morte celular induzido por essas toxinas e a possível utilização como marcador tumoral.

¹ Biologia Molecular, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

³ Biologia Celular, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁴ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

053 - AVALIAÇÃO DE ISOLADOS DE *Trichoderma* PARA CONTROLE BIOLÓGICO DO MOFO BRANCO DO FEIJOEIRO USANDO UMA ESCALA DE NOTAS [Evaluation of *Trichoderma* isolates for biological control of the white mold by a note scale]

Santos, D.B.¹; Marques, E.²; Martins, I.³; Silva, J.B.T.⁴; Menezes, J.E.⁵; Mello, S.C.M.⁶

Entre as doenças fúngicas que afetam a cultura do feijão encontra-se o mofo branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum* de Bary (Lib.), que além de diminuir a produtividade, deprecia a qualidade do produto. Por esse motivo diversos microrganismos vêm sendo avaliados como agentes de biocontrole para essa doença. O gênero *Trichoderma* spp. está entre os fungos filamentosos mais utilizados para esta finalidade. Neste trabalho, 10 isolados de *Trichoderma* spp. Foram testados em plântulas de feijão cultivadas em casa de vegetação. Na avaliação dos sintomas da doença, utilizou-se uma escala de notas de 1 a 9 e, a partir da análise dos dados obtidos, foram identificados 3 grupos (A, B, C) classificados pelo teste *Scott Knott*. O isolado CEN 1241 apresentou melhor desempenho, juntamente com o grupo controle (sem o patógeno). Outros três isolados apresentaram eficiência intermediária, enquanto os demais agruparam-se com a testemunha inoculada somente com o patógeno. Desta forma, quatro isolados foram selecionados para estudos posteriores.

Apoio: Capes/Embrapa.

¹ Biologia, graduação, Centro Universitário do Distrito Federal-UDF

² Fitopatologia, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista Capes

³ Ciências Agrárias, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Fitotecnia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

054 - AVALIAÇÃO DE *Trichoderma* spp. NO BIOCONTROLE DO MOFO BRANCO DO FEIJOEIRO POR PARÂMETROS DE PRODUÇÃO [Evaluation of *Trichoderma* spp. for biocontrol of white mold of bean in base of production parameters]

Santos, D.B.¹; Menezes, J.E.²; Marques, E.³; Martins, I.⁴; Silva, J.B.T.⁵; Mello, S.C.M.⁶

A importância das doenças fúngicas propagadas pela semente, na cultura de feijão, é crucial para a produção e a produtividade dessa cultura. O fungo *Sclerotinia sclerotiorum*, causa redução na produção do feijoeiro, desestimulando a exploração da cultura. O objetivo deste trabalho foi avaliar o controle dessa doença, em casa de vegetação, utilizando 10 isolados de *Trichoderma* spp., previamente testados in vitro. Foi estabelecido um grupo controle sem a presença de *Trichoderma* spp. e outro grupo sem a presença de ambos os fungos (patógeno e antagonista). Para cada tratamento foram realizadas 15 repetições, onde foram plantadas três sementes de feijão em cada copo descartável com 300 mL de capacidade, nos quais foram feitas pequenas perfurações no fundo. Após o crescimento das plantas foi retirada uma de cada copo, permanecendo duas em cada repetição. No 12º dia foi colocado discos do antagonista na axila foliar de cada planta, exceto na testemunha absoluta. Em seguida, foram borrifadas suspensões de esporos de *Trichoderma* spp. em cada tratamento correspondente a cada isolado, exceto nos grupos controle. Depois de um mês as plântulas foram transferidas para vasos de 500g e com cerca de três meses, procedeu-se a contagem de vagens e de grãos de cada vagem. Observou-se que os isolados CEN1271; CEN1248 e CEN1253 apresentaram maior produção de vagens e de grãos de qualidade. O isolados CEN1248 e CEN1253 apresentaram maior nível de controle da doença.

Apoio: Capes/Embrapa.

¹ Biologia, graduação, Centro Universitário do Distrito Federal-UDF

² Fitotecnia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Fitopatologia, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista Capes

⁴ Ciências Agrárias, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

055 - CARACTERIZAÇÃO DE *Sida micrantha mosaic virus* ISOLADO DE SOJA **[Characterization of *Sida micrantha mosaic virus* isolated from soybean]**

Alves-Freitas, D.M.T.¹; Fusaro, A.¹; Lacorte, C.²; Boiteux, L.S.³; Ribeiro, S.G.⁴

A ocorrência de begomovírus em plantas de soja (*Glycine max*) tem sido relatada esporadicamente no Brasil e não está associada a perda de produtividade até o momento. No entanto, a lista de begomovírus infectando soja vem crescendo, e há uma preocupação que a perda de produção possa aumentar, uma vez que um begomovírus infectando soja tem causado perdas recentemente na Argentina. Esta ameaça potencial tem intensificado as pesquisas com infecção por begomovírus em áreas de produção de soja. Amostras obtidas a partir de plantas de soja coletadas no Distrito Federal, com sintomas típicos de infecção por begomovírus foram analisadas. O DNA viral de plantas infectadas foi submetido à amplificação por círculo rolante (RCA), clonagem e sequenciamento. As análises filogenéticas e comparações de sequenciamento dos clones de DNA-A e DNA-B confirmaram o diagnóstico para *Sida micrantha mosaic virus* (SiMMV). Mudanças de *Phaseolus vulgaris* 'Pérola', *Glycine max* 'Conquista' e 'Williams 82', *Solanum lycopersicum* 'Santa Clara' e 'Money Maker', *Nicotiana benthamiana* e *Sida rhombifolia* foram inoculadas com os componentes DNA-A e DNA-B de SiMMV pelo método de biobalística para confirmar a sua capacidade infecciosa. Quatro semanas após a inoculação, sintomas típicos de SiMMV foram observados em quase todas as espécies de plantas inoculadas. Apenas *S. lycopersicum* e *Phaseolus vulgaris* não apresentaram sintomas ou infecção. Folhas de soja e *Sida rhombifolia* exibiram sintomas como mosaico amarelo e dourado, amarelecimento das nervuras, manchas cloróticas, necroses, bolhosidades, distorção foliar e nanismo; sintomas como nanismo, distorção foliar e bolhosidades foram observadas em plantas de *N. benthamiana*. A infecção foi confirmada por PCR utilizando iniciadores universais para begomovírus e sequenciamento do fragmento amplificado. Este é o primeiro relato de clones infecciosos de SiMMV em soja, sendo uma ferramenta valiosa para estudo da interação soja-begomovírus.

Apoio: Embrapa, CNPq, INCTIPP e FAP-DF.

¹ Virologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Biotecnologia Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Melhoramento Vegetal, Ph.D., Embrapa Hortaliças

⁴ Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

056 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BEGOMOVÍRUS INFECTANDO FEIJÃO E PLANTAS NÃO CULTIVADAS ASSOCIADAS À CULTURA DO FEIJOEIRO NO ESTADO DE PERNAMBUCO [Molecular characterization of begomovirus infecting beans and associated non-cultivated plants in the State of Pernambuco]

Poppiel, R.R.¹; Matos, V.O.R.L.²; Alves-Freitas, D.M.T.³; Blawid, R.⁴; Costa, A.F.⁵; Ribeiro, S.G.⁶

Begomovírus (família *Geminiviridae*) são patógenos virais de plantas transmitidos pela mosca-branca, responsáveis pela devastação de muitas culturas como feijão, mandioca, pimenta e tomate em todo o mundo. Plantas não cultivadas desempenham um papel importante como hospedeiros alternativos e como fontes de inóculo desses vírus que afetam a cultura do feijão. Assim, em 2013 foi feito um levantamento da ocorrência de begomovírus na cultura de feijão e plantas não cultivadas encontradas nas proximidades da cultura. Foram coletadas plantas dos gêneros *Sida* sp., *Desmodium glabrum*, *Macroptilium* sp., *Rhynchosia minima* amplamente distribuídas por todo o território brasileiro, e plantas de *Phaseolus vulgaris* com sintomas de encarquilhamento, mosaico amarelo, rugosidade e deformação das folhas nos municípios de Caruarú, Ibimirim e Arcoverde, estado de Pernambuco. O DNA foliar foi extraído pelo método de CTAB. Por meio da reação da PCR utilizando o par de iniciadores degenerados universais para begomovirus pAL1v1978 e pAR1c496, foram obtidos fragmentos parciais do genoma viral do tamanho de 1,2 Kb. Os amplicons clonados e posteriormente sequenciados apontaram infecção por diversos begomovirus. O genoma viral completo foi obtido a partir do DNA total das amostras por amplificação por círculo rolante (RCA). Os produtos da RCA foram digeridos com as enzimas de restrição *HindIII*, *KpnI*, *EcoRI* e *ClaI* resultando em fragmentos de aproximadamente 2,6Kb que foram clonados em pBLUESCRIPT KS+ e sequenciados (Macrogen Inc.) por primer walking. As sequências obtidas foram analisadas *in silico* e submetidas a uma pesquisa BLASTn para atribuição preliminar de espécies resultando em identidades que variaram de 93 a 99% para os vírus de *Phaseolus vulgaris* e *Rhynchosia minima* com o DNA-A de diferentes isolados de Macroptilium yellow net virus (MaYNV). Plantas de *Desmodium glabrum* (família Fabaceae) apresentaram identidade entre 93 a 99% com DNA-A de diferentes isolados de Macroptilium yellow spot virus (MaYSV). Este estudo apresenta o primeiro relato de MaYNV em feijoeiros e plantas de *R. minima* e MaYSV infectando plantas de *Desmodium* sp. Para o begomovírus isolado de *Sida* sp., a identidade máxima de 88% foi obtida com DNA-A de sequências depositadas no banco de dados GenBank, pelo qual, com base nos critérios taxonômicos atuais do Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV) para o gênero Begomovirus, o isolado é uma provável nova espécie deste gênero.

Apoio: Cenargen e CNPq.

¹ Engenharia Agrônoma, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

³ Virologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Virologia Molecular, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁵ Virologia Molecular, Ph.D., Instituto Agrônomo de Pernambuco-IPA

⁶ Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

057 - COMPARAÇÃO DE DIFERENTES METODOLOGIAS PARA TESTES DE TRANSMISSÃO POR SEMENTE DO *Wheat streak mosaic virus* EM TRIGO [Comparison of different methodologies for seed transmission tests of *Wheat streak mosaic virus* in wheat]

Botelho, S.R.A.¹; Sanches, M.M.²; Fernandes, F.R.³; Lau, D.⁴

Wheat streak mosaic virus (WSMV), gênero *Tritimovirus*, família *Potyviridae* infecta trigo (*Triticum aestivum*) e outros cereais e possui como principais formas de transmissão o ácaro *Aceria tosichella* e via sementes. A taxa de transmissão do vírus por sementes é baixa (0-5%), onde a mesma é realizada dentro do embrião, porém nem sempre resulta em mudas infectadas pelo vírus. Recentemente o WSMV foi detectado no Brasil, e a fim de prevenir sua disseminação por meio de viveiristas é importante se determinar a taxa de transmissão por sementes de isolados virais brasileiros. Sementes provenientes de plantas de trigo infectadas com WSMV foram coletadas para os testes diagnósticos. Realizou-se o plantio de parte das sementes em casa-de-vegetação para diagnose de folhas por meio do teste Elisa, considerando positivo o valor de absorbância pelo menos três vezes maior que o valor do controle negativo. Utilizou-se outra parte das sementes para testes moleculares, cortando-as longitudinalmente (endosperma + embrião) e transversalmente (somente o endosperma) e extraiu-se o RNA pelo procedimento que combina o método CTAB e a coluna do RNeasy Mini Kit (Qiagen). Para as reações de transcrição reversa (RT) utilizou-se a transcriptase reversa MMLV (Invitrogen) com *primer* específico. Realizou-se um ensaio da reação em cadeia da polimerase (PCR), o par de *primers* WMSV F e WSMV R, no equipamento Mastercycler Eppendorf, sendo as amostras submetidas às seguintes condições: desnaturação inicial a 94° C durante 5 min, seguido de 38 ciclos de 94° C por 30 min, 57° C por 1 min, 72° C por 1,30 min e 72° C durante 10 min de extensão final. Para certificar-se que houve a amplificação do produto da PCR, realizou-se eletroforese em gel de agarose 1%. O rendimento e a qualidade do RNA extraído direto das sementes foram melhores nas sementes cortadas longitudinalmente (embrião+endosperma). Os resultados do teste de plantio e Elisa indicaram uma porcentagem de transmissão do WSMV de 0,43%, contudo a porcentagem de germinação de sementes foi de apenas 22%. Os resultados da RT-PCR diretamente através de sementes têm indicado uma presença maior de WSMV nas sementes, e pretende-se validar este método diagnóstico para maior acurácia nas análises diagnósticas para este vírus em sementes de trigo.

Apoio: Embrapa.

¹ Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Virologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Virologia, Ph.D., Embrapa Quarentena Vegetal

⁴ Virologia, Ph.D., Embrapa Trigo

058 - DETECÇÃO DE GENES DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO EM *Bacillus thuringiensis* [Detection of plant growth promotion genes in *Bacillus thuringiensis* strains]

Caixeta, C.F.¹; Sabiá Júnior, E.F.²; Queiroz, P.R.M.³; Martins, E.S.³; Monnerat, R.G.⁴

Bacillus thuringiensis (Bt) é uma bactéria cosmopolita que expressa diversas proteínas durante seus estágios de crescimento dentre elas δ -endotoxinas, α -exotoxina, β -exotoxina, VIP, hemolisinas, enterotoxinas, quitinases e fosfolipases. As δ -endotoxinas, ou toxinas Cry e Cyt possuem atividade entomopatogênica, estirpes de *B. thuringiensis* que expressam estas toxinas podem atuar como importantes agentes de controle biológico. Uma ferramenta importante para a caracterização de estirpes de Bt é a identificação molecular de genes de interesse, seja para produção de proteínas com atividade inseticida, ou, que promovam incrementos celulares que auxiliem no desenvolvimento do vegetal. Com a necessidade de se conhecer cada vez mais e explorar as potencialidades deste microrganismo, o estudo objetivou avaliar a presença de genes das vias de biosíntese de fosfatase ácida (envolvida metabolismo de solubilização de fosfato); sideróforos (envolvidos nas vias de captação de ferro) e os genes *iam1*, *iam2* e *ipdC* (cuja proteína atua na via de biossíntese de ácido indol-acético) em estirpes de *Bacillus thuringiensis*. Foram caracterizadas 100 estirpes de *B. thuringiensis* da Coleção de Bactérias de Invertebrados da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. As estirpes foram crescidas por 16 horas, em seguida o DNA foi extraído e 100 pg foram usados para detecção dos genes relacionados ao metabolismo de crescimento vegetal via PCR. Os amplicons foram visualizados em gel de agarose 1,5%, corados com brometo de etídeo, visualizados e fotodocumentados. Os iniciadores usados para cada reação foram desenhados com o auxílio do programa Vector NTI Advance 10 (Invitrogen) a partir de sequências obtidas no *GenBank*. Para a detecção dos genes da via de biossíntese de auxinas foram desenhados três iniciadores, uma vez que, a produção deste metabólito pode se dar por duas vias distintas. Das estirpes analisadas, 35 apresentaram amplicons de tamanhos esperados para o gene codificador da enzima fosfatase ácida, 30 foram positivos para os genes da via de síntese de sideróforos, 85 foram positivos para a presença do gene *ipdC* e 95 para os genes *iam1* e *iam2*, envolvidos nas rotas de biossíntese do hormônio AIA, mostrando serem muito frequentes em estirpes de Bt. A detecção destes genes corrobora com outros trabalhos que já demonstraram o envolvimento de estirpes de Bt no processo de promoção de crescimento de vegetais.

¹ Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmT

⁴ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

059 - DETECÇÃO ESPECÍFICA DE TRÊS BEGOMOVÍRUS EM FEIJOEIRO E PLANTAS DANINHAS NO ESTADO DE PERNAMBUCO [Specific detection of three begomovirus in bean and weed in State of Pernambuco]

Matos, V.O.R.L.¹; Alves-Freitas, D.M.T.²; Lamas, N.S.³; Ribeiro, S.G.⁴

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma cultura economicamente importante no Brasil, no entanto alguns patógenos limitam a produção, como o begomovírus *Bean golden mosaic virus* (BGMV), que infecta esta cultura e pode causar até 100% de perdas. Begomovírus também estão associados com uma ampla gama de espécies de plantas daninhas, que podem atuar como fontes de inóculo para plantas cultivadas como o feijão. Esta transmissão ocorre pela mosca branca (*Bemisia tabaci*) biótipo B. Estudos preliminares de amostras foliares de feijoeiro e plantas daninhas (*Macroptilium* spp., *Sida* sp., *Desmodium glabrum*, *Blainvillea rhomboidea*, *Rhyncosia minima* e *Euphorbia heterophylla*) coletadas em três localidades de Pernambuco - Caruaru, Arcoverde e Ibimirim- mostraram infecção por begomovírus. Este trabalho teve por objetivo a detecção específica de três begomovírus nas mesmas amostras coletadas em Pernambuco: BGMV, *Macroptilium yellow spot virus* (MaYSV) e *Macroptilium yellow net virus* (MaYNV). O DNA total das plantas foi submetido à amplificação individual via PCR com *primers* universais para begomovírus. Algumas amostras positivas foram clonadas e sequenciadas. A partir do alinhamento de sequências obtidas foram desenvolvidos *primers* específicos para MaYNV e MaYSV. As amostras foram amplificadas via PCR utilizando os *primers* desenvolvidos e *primer* para BGMV obtido da literatura. O fragmento gerado foi submetido a eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídeo. Foi observado que, nas três localidades, todas as plantas de feijoeiro estavam infectadas com MaYSV. Em Caruaru também foi observada a presença deste vírus em *Macroptilium* sp. e *Desmodium glabrum*, e apenas uma planta feijoeiro apresentou infecção mista com BGMV. Em Arcoverde, o único vírus detectado foi MaYSV, tanto em feijoeiros quanto em plantas de *Macroptilium* ssp.. Já em Ibimirim, além do vírus MaYSV, foram encontradas duas plantas de feijoeiro infectadas também por MaYNV, sendo este relatado pela primeira vez em *Phaseolus vulgaris*. Este mesmo vírus foi encontrado também nas plantas de *Rhyncosia minima*, o que pode sugerir que estas sejam fonte de inóculo deste vírus. Tais resultados trazem nova perspectiva ao estudo e desenvolvimento de plantas de feijoeiro resistentes a begomovirus.

¹ Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Virologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biologia Molecular, mestrado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

⁴ Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

060 - EFEITO DE *Bacillus thuringiensis* NA COLONIZAÇÃO E AÇÃO ENDOFÍTICA PARA PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E BIOCONTROLE [Effect of *Bacillus thuringiensis* in colonization and action endophytic for growth promotion and biocontrol]

Santana, F.¹; Praça, L.B.²; Mendes, A.C.³; Soares, C.M.S.⁴; Monnerat, R.G.⁵

Bacillus thuringiensis (Bt) é utilizado na cultura do algodoeiro como produto formulado para biocontrole de insetos desfolhadores e na doação de genes para síntese de plantas resistentes. A literatura dispõe de pouca informação envolvendo estudo da eficiência de Bt com atuação endofítica na promoção de crescimento e no controle de insetos-praga. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a capacidade de colonização da estirpe S2122 de Bt inoculada em sementes de algodão da cultivar BRS 8H e no biocontrole sobre *Spodoptera frugiperda*. O ensaio foi instalado em casa de vegetação, o delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado composto por duas concentrações de Bt (10^6 e 10^8 UFC/mL) mais o tratamento controle sem inoculação e avaliado por um período de 30 dias. O índice de velocidade de emergência (IVE), a identificação do estágio fenológico, características de crescimento e de massa seca aérea e radicular foram os parâmetros avaliados. A cada semana, folhas de cada tratamento foram ofertadas para larvas de *S. frugiperda* para avaliação de mortalidade. Em laboratório, amostras de raiz, caule e folhas de plantas com e sem inoculação foram preparadas para visualização da colonização por Bt por microscopia eletrônica de varredura. Foi possível inferir a partir dos resultados, que não houve diferença estatística do IVE, de massa seca da parte aérea e radicular e no comprimento de raiz. Porém, foi observado que as concentrações de Bt favoreceram uma maior altura de plantas e foi positivo quanto ao número de folhas e na identificação do estágio fenológico. As lagartas que se alimentaram de folhas dos tratamentos com Bt apresentaram tamanhos menores comparadas aos indivíduos que se alimentaram do tratamento controle e exibiram sintomas de intoxicação. Foi possível detectar características morfológicas típicas da estirpe S2122 nas partes da planta de algodão inoculada o que comprova a penetração e colonização de Bt via semente.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Agronomia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Entomologia, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

⁵ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

061 - ENVOLVIMENTO DO GENE *TMV RESPONSE RELATED-PROTEIN* NA DEFESA DO TOMATEIRO AO VÍRUS *Tomato chlorotic mottle virus* [Involvement of TMV response related-protein in the defense of tomato to *Tomato chlorotic mottle virus*]

Villeth, G.R.C.¹; Lacerda, A.L.M.²; Lacorte, C.³; Brasileiro, A.C.M.⁴; Boiteux, L.S.⁵; Ribeiro, S.G.⁶

Os begomovírus atualmente representam um dos mais sérios problemas para o cultivo de tomate em todo o mundo. No Brasil, o melhoramento para resistência a begomovirose viabilizou o desenvolvimento da linhagem resistente de tomate 'LAM-157' (que carrega o locus *tcm-1*), essa é uma linhagem quase isogênica a cultivar suscetível Santa Clara. Para estudar a interação e a resposta diferencial dos genótipos de tomate ao vírus *Tomato chlorotic mottle virus* (ToCMoV) foi feita uma análise do transcriptoma utilizando sequenciamento de RNA (RNAseq). Vários genes mostraram expressão diferencial nas plantas resistentes 'LAM-157' inoculadas com ToCMoV. Um destes genes, o *TMV response-related protein* (TMV-RRP), gene supostamente envolvido na resposta da planta ao vírus TMV (*Tobacco mosaic virus*), mostrou uma indução significativa na sua expressão (log2 fold change >2.5). Os resultados do RNAseq foram confirmados por qPCR usando diferentes tempos durante a infecção viral em 'LAM-157', destacando seu possível envolvimento do TMV-RRP no processo defesa /resistência de tomate à ToCMoV. Para validar essa hipótese *in planta*, o gene TMV-RRP de LAM-157 foi clonado e transferido para plantas *Nicotiana benthamiana* por transformação utilizando *Agrobacterium*. As plantas transgênicas serão inoculadas com ToCMoV para verificar a influência da super-expressão do TMV-RRP no fenótipo da doença de acumulação viral.

Apoio: Embrapa, CNPq, INCTIPP e FAP-DF.

¹ Biologia, mestrado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

² Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista CNPq

³ Biotecnologia Vegetal, Ph.D., Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Genética e Melhoramento, Ph.D., Embrapa Hortaliças

⁶ Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

062 - EXPRESSÃO DO GENE DE UMA ESFINGOMIELINASE DE *Trichoderma harzianum* EM *Nicotiana tabacum* L. E SEU EFEITO SOBRE FITOPATÓGENOS [Expression of a sphingomyelinase gene from *Trichoderma harzianum* in *Nicotiana tabacum* L. and its effect on plant pathogens]

Berbert, P.S.¹; Vieira, P.M.²; Cabral, G.B.³; Ulhoa, C.J.⁴; Aragão, F.J.L.³

As doenças causadas por fungos fitopatogênicos estão entre as principais causas de perdas na produção agrícola do país, sendo o controle biológico importante no controle dessas doenças. Dentre os microrganismos mais utilizados para o controle biológico estão os fungos do gênero *Trichoderma*. A identificação de genes de *Trichoderma*, sua introdução e expressão em plantas é uma ferramenta biotecnológica para o controle de doenças vegetais. Neste contexto, o gene que codifica para a enzima esfingomielinase foi o mais expresso no antagonismo contra o fitopatógeno *Fusarium*. O objetivo deste trabalho foi obter plantas de *Nicotiana tabacum* que superexpresssem o gene de uma esfingomielinase de *Trichoderma* sp. e além disso, avaliar essas plantas quanto à resistência a fitopatógenos. Após a construção e clonagem do cassete de expressão do gene da esfingomielinase no vetor pCambia3300 sob controle do promotor constitutivo CaMV35S, plantas de tabaco foram transformadas via *Agrobacterium tumefaciens* e confirmadas por PCR. Foram geradas 36 plantas de *Nicotiana tabacum* no total. Para *screening* das melhores linhagens, sementes de 10 linhagens T₁ foram plantadas por bloco em casa de vegetação. Dentro de cada linhagem foram selecionadas cinco plantas através da aplicação do herbicida glifosinato na diluição de 2 mg/mL; as plantas que não apresentaram lesão foram testadas para a confirmação da expressão do gene da esfingomielinase por PCR e para os bioensaios. As repetições do teste com o fungo *Sclerotinia sclerotiorum* demonstraram que as linhagens transgênicas não diferiram significativamente com relação ao controle, com destaque para as linhagens 6, 10 e 12 que apresentaram lesões menores do que o controle. Os ensaios com a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*, seguiram o protocolo estabelecido, depois de crescida a cultura foi centrifugada e ressuspendida em água destilada utilizando a escala de Mc Farland na diluição de 10⁻⁷, e para avaliação foi utilizado o leitor de clorofila (Opti-science CCM-200) e o programa Image J para leitura da área do dano. Os resultados com clorofilômetro demonstram que as plantas controle possuem duas vezes mais perda de clorofila nas áreas infiltradas que as plantas transgênicas, e as leituras da área infiltrada demonstram claramente que houve uma grande diferença entre os eventos geneticamente modificados e os controles. Os resultados indicam que o gene da esfingomielinase está conferindo resistência às plantas transformadas, que foram menos susceptível a *Pseudomonas* e *Sclerotinia*.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia Celular e Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Genética e Bioquímica de Microorganismos, Ph.D., Universidade Federal de Goiás-UFG

063 - IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS DE DEFESA EXPRESSAS DURANTE A INTERAÇÃO *Gossipium hirsutum*-*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* [Identification of defense proteins expressed during *Gossipium hirsutum*-*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* interaction]

Santos, I.R.¹; Rios, T.B.²; Oliveira Neto, O.B.³; Silva, L.P.⁴; Mehta, A.⁵

O algodoeiro (*Gossipium hirsutum*) possui grande importância econômica, entretanto, esta cultura é bastante afetada pela mancha angular, causada por *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* (Xam). Este patógeno é transmitido por sementes infectadas e até o momento não existem métodos apropriados para erradicar a bactéria da semente. O objetivo deste estudo foi identificar as proteínas relacionadas ao mecanismo de defesa/resistência durante a interação *Gossipium hirsutum*-*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*. Foram utilizadas plantas dos genótipos resistente (S295) e suscetível (Acala 44) inoculadas com Xam e plantas controle inoculadas com solução salina. Essas plantas foram coletadas 24 e 120 h após a inoculação e utilizadas para extração de proteínas utilizando fenol. Aproximadamente 600 µg de proteínas foram analisadas por 2-DE. A análise das interações resistente e suscetível (inoculado X controle) revelou várias proteínas diferencialmente expressas. Um total de 83 proteínas foi identificado, incluindo proteínas aumentadas, diminuídas e exclusivas de cada interação. Diferentes processos biológicos foram afetados em consequência à infecção por Xam. Durante a interação resistente, foram observadas proteínas envolvidas na fotossíntese, estresse oxidativo e resposta de defesa, como a peroxiredoxina Q. Algumas proteínas identificadas potencialmente envolvidas na resistência à Xam serão selecionadas para validação funcional em plantas-modelo. Estes estudos poderão auxiliar os programas de melhoramento na busca por estratégias mais eficazes de controle da mancha angular.

Apoio: Embrapa e CNPq.

¹ Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

² Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia Molecular, Ph.D., Centro Universitário Unieuro

⁴ Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

064 - IDENTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS ENVOLVIDAS NA INTERAÇÃO *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* – *Brassica oleracea* por 2D-nanoUPLC/MS^E [Identification of proteins involved in the *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*-*Brassica oleracea* interaction by 2D-nanoUPLC/MS^E]

Santos, C.¹; Ribeiro, D.R.²; Carmo, L.S.T.³; Labuto, L.B.D.⁴; Oliveira Neto, O.B.⁵; Murad, A.M.⁶; Rech, E.L.⁷; Franco, O.L.⁸; Mehta, A.⁹

Brassica oleracea L. é uma espécie de planta com ampla distribuição mundial de grande interesse alimentício e ornamental. Essas plantas tem sido alvo de uma variedade de fitopatógenos incluindo *Xanthomonas*, um gênero composto por diversas bactérias fitopatogênicas. *X. campestris* pv. *campestris* (Xcc) é o agente etiológico da podridão negra que infecta muitas espécies de *Brassica* e causa perdas significativas em diversas culturas economicamente importantes. Uma vez depositada na epiderme da planta, *X. campestris* pv. *campestris* é capaz de penetrar os tecidos e causar a doença. O objetivo deste trabalho foi estudar a interação *X. campestris* pv. *campestris*-*Brassica oleracea* usando um sistema *in vivo* para identificação de proteínas envolvidas no processo de patogenicidade. Inicialmente, um estudo de dinâmica de população foi realizado para determinar o momento apropriado para recuperação da bactéria da planta. Plantas do genótipo suscetível com dois meses de idade foram inoculadas com Xcc ($A_{600nm} = 0.6$) usando uma seringa. Após 48 horas a bactéria foi recuperada. Como condição controle foi utilizada a bactéria cultivada em meio de cultura NYG. As proteínas totais foram extraídas usando fenol e precipitadas com acetato de amônio em metanol. As proteínas foram analisadas usando a técnica 2D-nanoUPLC/MS^E e a plataforma de identificação e quantificação de proteínas ProteinLynx Global Server (PLGs). Os dados obtidos foram comparados com sequências depositadas no banco de dados UniProt e foram identificadas mais de 1900 proteínas, sendo algumas exclusivas dos diferentes tratamentos. Várias proteínas aumentadas e diminuídas foram também identificadas durante a interação suscetível quando comparada ao controle. Os resultados obtidos indicam que durante a interação patógeno-planta, Xcc aumenta a expressão de várias proteínas importantes para infecção bacteriana como Clp, XanB, TonB e proteínas relacionadas a síntese de aminoácidos. Por outro lado Xcc poupa energia diminuindo a expressão de proteínas ribossomais e consequentemente a síntese proteica.

Apoio: Capes, Embrapa e CNPq.

¹ Ciências Genômicas, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

³ Biologia Molecular, doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

⁴ Biologia, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Biologia Molecular, Ph.D., Centro Universitário Unieuro

⁶ Ciências da Computação, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷ Biotecnologia e Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁸ Biologia Molecular, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

⁹ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

065 - IDENTIFICAÇÃO DE VÍRUS PATOGENICOS A LARVAS DE *Chrysodeixis includens* E *Helicoverpa armigera* [Identification of virus isolates pathogenic to *Chrysodeixis includens* and *Helicoverpa armigera* larvae]

Craveiro, S.R.¹; Moreira Filho, D.A.M.²; Ribeiro, Z.M.A.³; Gomes, A.C.M.M.⁴; Ferreira, B.C.⁵; Lima, A.A.⁵; Soares, C.M.S.⁶; Castro, M.E.B.⁷

Chrysodeixis (= *Pseudoplusia*) *includens* (Lepidoptera: Noctuidae), uma praga emergente conhecida como *lagarta falsa medideira*, e *Helicoverpa armigera*, uma praga de ocorrência recente no Brasil, vêm causando sérios problemas às plantações de soja e algodão, ocorrendo também em outras culturas. Com o objetivo de prospectar vírus com alta atividade inseticida para controle dessas espécies de insetos-praga, estudos morfológicos e moleculares estão sendo conduzidos para sua utilização na pesquisa e desenvolvimento tecnológico de produtos. Macerados de lagartas infectadas por vírus foram utilizados para obtenção de vírus purificados na forma de suspensão de poliedros. Essas partículas OBs (*occlusion bodies*) purificadas foram contadas em hemacitômetro e analisadas por microscopia óptica e eletrônica. Os DNAs dos isolados virais foram purificados (extrações com fenol/clorofórmio/álcool isoamílico), e usados como molde para reações de amplificação (PCR – reação em cadeia da polimerase) a partir de oligonucleotídeos degenerados específicos a genes altamente conservados entre os baculovirus: *lef-8* (*late expression factor*), *lef-9*, *pif-2* (*per os infectivity factor*) e *polh* (*polyhedrin*). Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1%, sequenciados (*ABI Prism 3730*) e também analisados utilizando-se ferramentas de bioinformática. Os resultados obtidos das análises realizadas permitiram evidenciar características morfológicas típicas de baculovirus do gênero *Alphabaculovirus*, NPV (*nucleopolyhedrovirus*) específicos de lepidópteros e comprovar sequências nucleotídicas parciais correspondentes aos quatro genes analisados que, usados nas análises filogenéticas, demonstraram tratar-se de espécies distintas dos baculovírus até então descritos na literatura. A identificação desses vírus são atividades importantes na busca de novos agentes de controle biológico que poderão ser utilizados como princípio ativo na formulação de bioinseticidas.

Apoio: Cenargen, Capes, IMAmt e UnB.

¹ Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Ciências Biológicas, graduação, Universidade Paulista-UNIP

³ Fitopatologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Ciências Agrárias, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

⁶ Entomologia, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmt

⁷ Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

066 - INTERCEPÇÃO DE "*Candidatus Phytoplasma solani*" NO BRASIL EM MATERIAL PROPAGATIVO DE MAÇÃ DA FRANÇA [Interception of "*Candidatus Phytoplasma solani*" in apple propagative material from France]

Barbosa, A.V.¹; Botelho, S.R.A.²; Eckstein, B.³; Oliveira, M.L.C.A.⁴; Sanches, M.M.³; Fernandes, F.R.⁵

A expansão do cultivo de maçãs é relativamente recente no Brasil, portanto é necessário que haja controle do germoplasma importado para evitar a introdução de pragas exóticas. Foram recebidos 11 acessos de maçã (*Malus* spp.) da França pelo Laboratório de Quarentena Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen). Após a enxertia em porta-enxerto sadio em casa-de-vegetação, as plantas apresentaram sintomas típicos de infecção por fitoplasmas como nanismo, folhas reduzidas e distorção foliar. Para comprovar a etiologia da doença foram realizados testes de PCR com oligonucleotídeos universais para fitoplasmas (P1/P7; R16F2n/R16R2) que amplificam a região correspondente ao 16S rRNA destes procariotos, a partir do DNA extraído de folhas sintomáticas. Houve amplificação do fragmento de tamanho esperado (~1200 pb) para dois acessos e a análise do sequenciamento (Macrogen, Korea) revelou uma identidade de 98-99% com a espécie "*Candidatus Phytoplasma solani*" (grupo 16SrXII). Esta espécie causa grandes prejuízos em videira e outras fruteiras na Europa e ainda não foi relatada no Brasil. Insetos das famílias *Cixiidae* e *Cicadellidae* são vetores de estirpes de "*Candidatus Phytoplasma solani*" e no Brasil existe uma grande diversidade dessas duas famílias potencialmente transmissoras deste fitoplasma. Devido à ineficiência do uso de antibióticos e tratamentos adicionais para o controle da doença, todos os acessos recebidos foram incinerados de acordo com a Legislação Federal de Proteção das Plantas (Decreto Nº 24.114, de 12 de abril de 1934).

Apoio: Embrapa.

¹ Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

² Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia, graduação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

⁵ Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Quarentena Vegetal

067 - INTERCEPTAÇÃO DO *Wheat mosaic virus* (WMoV) NO BRASIL [Interception of *Wheat mosaic virus* (WMoV) in Brazil]

Duarte, M.F.¹; Botelho, S.R.A.²; Barbosa, A.V.¹; Fernandes, F.R.³; Sanches, M.M.⁴

O *Wheat mosaic virus* (WMoV), anteriormente conhecido como High plains virus (HPV) ou *Maize red stripe virus* (MRSV/MRStV) é considerado de importância econômica pois causa severos danos a diversos cereais, tais como milho, trigo, cevada e aveia. Ele pode ocorrer, muitas vezes, em conjunto com o *Wheat streak mosaic virus* (WSMV), ambos são transmitidos pelo ácaro-do-enrolamento-do-trigo (wheat curl mite, WCM, *Aceria tosichella*). Os sintomas causados pela infecção pelo WMoV podem variar consideravelmente, incluindo mosaico, clorose e até necrose. Até o momento, apenas o WSMV foi detectado no Brasil, não havendo relato da presença de WMoV. Sementes de milho, trigo, *Eragrotis* sp., *Panicum coloratum*, triticales, cevada e *Chloris gayana* foram recepcionadas na Estação Quarentenária da Embrapa e submetidas aos testes fitossanitários. Após a germinação e desenvolvimento das plantas, foram coletadas amostras e submetidas à análise sorológica para a detecção de WMoV na unidade de Virologia, por meio da técnica Elisa direto com o uso de antissoro específico para WMoV (Agdia, Elkhart, IN). As amostras foram positivas e, posteriormente, foi realizada a detecção molecular do vírus. Para tal, procedeu-se à extração de RNA (Qiagen Plant RNeasy kit), síntese de cDNA e detecção específica de WMoV por meio de PCR quantitativo (qPCR) com SYBR Green e uso dos oligonucleotídeos HPVFW414 (5' GAG TGC TGG TTT TTC TAA GGA GCA CA 3') e HPVREV565 (5' CTG ACC ATA GGT GCC ACA AGG TCT GA 3') em plataforma Rotor-Gene Q (Qiagen). Houve a amplificação do fragmento esperado (~200 pb) para todas as amostras analisadas e as reações foram purificadas para submissão à análise de sequenciamento (Macrogen, Korea). As sequências nucleotídicas foram analisadas no algoritmo BlastN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>) e confirmada a identidade (superior a 97%) com diferentes isolados de WMoV (KC337341, KC337342 e KJ939626) disponíveis no *GenBank*.

Apoio: Embrapa.

¹ Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

² Biologia, graduação, Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Quarentena Vegetal

⁴ Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

068 - MEDIÇÃO DO TAMANHO DE POLIEDROS DE VARIANTES MP DO BACULOVÍRUS AgMNPV POR MICROSCOPIA DE VARREDURA [Measurement of the polyhedra size of AgMNPV baculovirus MP variants by Scanning Electron Microscopy]

Alcântara, L.T.A.¹; Sihler, W.²; Falcão, R.³; Faria, M.R.⁴; Souza, M.L.⁵

Os Baculovirus são vírus que infectam invertebrados, sendo a maioria destes da ordem Lepidoptera (classe Insecta). Seu uso como um agente alternativo aos inseticidas químicos se dá por suas propriedades que conferem total segurança ao ser humano e especificidade à praga. A produção comercial de baculovírus tem sido feita pela sua multiplicação no inseto hospedeiro (*in vivo*). A produção em cultivos celulares apresenta algumas limitações como a formação de mutantes durante a passagem serial do vírus nas células. Uma estratégia para otimizar a produção *in vitro* é a seleção de variantes geneticamente estáveis de baculovírus denominados *Many Polyhedra* (MP). Esses variantes persistem na população viral durante passagens sucessivas em cultura de células, mantendo o fenótipo selvagem (muitos poliedros no núcleo celular) durante o acúmulo de mutantes com fenótipo *Few Polyhedra* (FP). O objetivo deste trabalho foi determinar o tamanho das partículas virais de seis variantes *Many Polyhedra* (MP) do vírus *Anticarsia gemmatilis* MNPV. Os isolados foram obtidos pela técnica de *plaque assay* após passagem consecutiva do vírus AgMNPV 2D em células BTI-Tn5-B1-4 (*High Five*). A medição do tamanho dos poliedros foi realizada em microscópio eletrônico de varredura DSM 962/Zeiss, após a lise das células infectadas em sonificador ultrassônico. Ferramentas estatísticas foram empregadas para comparação do tamanho médio dos corpos de oclusão dos variantes MP e do inóculo original AgMNPV-2D. Foi verificado que o isolado MP5 possui os maiores poliedros (2,18 µm) enquanto o MP1 apresenta as menores partículas virais (1,72µm). O vírus AgMNPV-2D, utilizado com referência, apresentou valor de 2,09µm. Análises estatísticas revelaram não haver diferença significativa entre os variantes MP2, MP3, MP5, MP6 e AgMNPV-2D, embora os variantes MP1 e MP4 possuam médias estatisticamente diferentes do inóculo original. Com base nesses resultados, não foi possível identificar a alteração de tamanho dos poliedros do vírus do AgMNPV como característica estrutural de seus variantes *Many Polyhedra*.

Apoio: Cenargen e CNPq.

¹ Biomedicina, graduação, Faculdades ICESP Promove de Brasília

² Biologia Molecular, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biotecnologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Entomologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

069 - METAGENÔMICA VIRAL EM FEIJOEIROS E PLANTAS DANINHAS DO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL

Mota, A.P.Z.¹; Lamas, N.S.²; Silva-Junior, O.B.³; Costa, M.M.C.⁴; Togawa, R.C.⁵; Costa, A.F.⁶; Melo, F.L.⁷; Grynberg, P.⁵; Ribeiro, S.G.⁸

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma importante cultura para o agronegócio brasileiro. Doenças virais são uma das principais causas para as perdas na agricultura. Begomovírus (família *Geminiviridae*) são importantes vírus que afetam as plantações de feijão no Brasil. Análises metagenômicas de viral é uma poderosa ferramenta para identificar e classificar a diversidade de vírus em uma população. Neste trabalho, feijões cultivados, apresentando sintomas de infecção viral e plantas daninhas igualmente infectadas, de três diferentes regiões do estado de Pernambuco (Arcoverde, Caruaru e Ibimirim) foram analisadas para a presença e diversidade de begomovírus. O DNA total das amostras foi extraído e enriquecido para elementos circulares, utilizando-se a técnica de RCA (amplificação por ciclo rolante), estas amostras foram sequenciadas pelo método de sequenciamento Roche 454 GS FLX de NSG. Após os passos de checagem de qualidade e filtragem um total de 136.873/86.386 (dado bruto/limpo) *reads* foi obtido. Razões similares foram obtidas para cada uma das amostras individuais. Os programas MEGAN e Metavir2 foram utilizados para as análises metagenômicas. Um total de 8 espécies de vírus foram identificadas nas 6 amostras analisadas. As análises revelaram que o vírus *Macrotailium yellow spot virus* (MYSV) foi o vírus mais comum, e foi encontrado em 5 das 6 bibliotecas. E *Bean golden mosaic virus*, um vírus que anteriormente era o mais comumente encontrado em amostras de feijão, foi encontrado em apenas uma das amostras.

Apoio: Embrapa, CNPq, FAP-DF e INCTIPP.

¹ Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, mestrado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

³ Bioinformática, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Ciência da Computação, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Bioinformática, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Agronomia, Instituto Agrônomo de Pernambuco-IPA

⁷ Virologia Molecular, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁸ Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

070 - NANOPARTÍCULAS SINTETIZADAS COM EXTRATO DE COGUMELO *Pleurotus ostreatus* E SUA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA CONTRA *Escherichia coli* [Nanoparticles synthesized with mushroom extract of the species *Pleurotus ostreatus* and their possible antimicrobial activity against *Escherichia coli*]

Silva, A.B.¹; Silva, L.P.²

A atividade antimicrobiana e antifúngica dos cogumelos tem sido reportada em diferentes estudos. Contudo não há relatos descritos na literatura envolvendo a utilização de nanobiotecnologia que apurem as possíveis propriedades antimicrobianas da espécie *Pleurotus ostreatus*. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi investigar o potencial antimicrobiano de nanopartículas sintetizadas a partir do extrato de *Pleurotus ostreatus*. Foram sintetizadas nanopartículas com extratos de cogumelos do tipo orgânico e não orgânico por meio de geleificação ionotrópica e nanoprecipitação. Estas foram caracterizadas quanto à carga de superfície, diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersividade e morfologia. Realizou-se ensaio *in vitro* utilizando a bactéria Gram-negativa *Escherichia coli* para verificar a viabilidade celular por MTT, além de monitorar o possível efeito protetor das propriedades organolépticas dos cogumelos mediante aplicação das nanopartículas nos mesmos. As partículas formadas por geleificação ionotrópica e por nanoprecipitação apresentaram diferentes populações com classes de tamanhos variados, de poucos nanômetros a cerca de 1 micrômetro. Apenas as partículas obtidas por nanoprecipitação apresentavam morfologia definida conforme avaliada por meio de microscopia de força atômica. Todas as nanopartículas apresentavam carga de superfície abaixo de -40 mV indicando estabilidade das nanoformulações e índices de polidispersividade altos indicando heterogeneidade das amostras. As nanopartículas obtidas por geleificação ionotrópica não alteraram a viabilidade celular das *E. coli*, enquanto que as obtidas por nanoprecipitação reduziram a menos de 50% a viabilidade das células pelo ensaio de MTT. Nenhuma das nanopartículas obtidas demonstrou qualquer efeito protetor sobre o processo de degradação dos cogumelos. Conclui-se que apenas as nanopartículas obtidas por nanoprecipitação a partir do extrato orgânico e não orgânico apresentaram atividade antibacteriana contra *E. coli* e estudos futuros serão necessários para avaliar as possíveis aplicações desses nanossistemas.

Apoio: Embrapa, UnB, CNPq e Capes.

¹ Nutrição, Nanociência e Nanotecnologia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB/CNPq

² Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

071 - OCORRÊNCIA NATURAL DE *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL PARASITANDO LAGARTA DE *Hypsipyla grandella* ZELLER (LEPIDOPTERA: PYRALIDAE) EM BRASÍLIA, DISTRITO FEDERAL [Natural occurrence of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill parasitizing caterpillar of *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) in Brasília, Distrito Federal]

Castro, M.T.¹; Silva, S.D.²; Montalvão, S.C.L.³; Monnerat, R.G.⁴

O ataque de *Hypsipyla grandella* Zeller em árvores de mogno utilizadas na arborização urbana em Brasília foi relatado em 2013 e seus danos em frutos foram quantificados. Grande parte dos frutos atacados apresentou orifícios característicos da presença da lagarta em seu interior, utilizados para a liberação de excrementos e posterior saída do adulto. Durante a análise dos frutos atacados, uma lagarta com sintoma de infecção fúngica foi encontrada. Esse trabalho teve como objetivo isolar e identificar o fungo causador da doença em *H. grandella*. A lagarta sintomática foi colocada em câmara úmida para maior formação de esporos e então, com o auxílio de um microscópio estereoscópio e uma agulha, parte do fungo foi transferido para meio BDA. Colônias puras foram obtidas a partir de diluições seriadas e repicagens sucessivas do fungo e então analisado em microscópio óptico e suas estruturas foram observadas e medidas. Como resultado, o fungo encontrado foi identificado como *Beauveria bassiana*, um entomopatógeno muito utilizado em programas de controle biológico. As colônias puras eram de cor branca e, ao microscópio óptico, apresentavam conídios unicelulares, células conidiogênicas holoblásticas com denticulos conspicuos, caracterizando a espécie. Este é o primeiro relato de um fungo entomopatogênico encontrado em *H. grandella* no Distrito Federal. O isolado foi incorporado na Coleção de Fungos Entomopatogênicos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e ficará disponível para futuros bioensaios.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

³ Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

⁴ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

072 - OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO VOLTAMÉTRICO PARA A AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM COGUMELOS [Optimization and validation of voltammetric method for the evaluation of antioxidant capacity and determination of phenolic compounds in mushrooms]

Cavalcante, R.S.¹; Magarelli, G.²; Castro, C.S.P.²; Urben, A.F.³

Dentre os variados tipos de compostos bioativos presentes em cogumelos, os ácidos fenólicos e os flavonóides representam uma vasta classe de compostos fenólicos cujas propriedades benéficas ao ser humano explicam-se fortemente por suas características antioxidantes. O objetivo do trabalho foi otimizar e validar métodos baseados na voltametria de pulso diferencial e eletrodo de carbono vítreo para a avaliação da capacidade antioxidante e determinação de ácidos fenólicos e flavonóides em cogumelos. As medidas voltamétricas foram realizadas utilizando-se um potenciostato / galvanostato (Metrohm), acoplado a uma célula eletroquímica composta do eletrodo de trabalho (carbono vítreo), do eletrodo de referência (Ag/AgCl) e do eletrodo auxiliar (platina). Para a otimização dos métodos, foram testados parâmetros eletroquímicos diferentes para 16 padrões de ácidos fenólicos e 11 padrões de flavonóides (Sigma Aldrich), os quais foram: eletrólito suporte (tampão fosfato e tampão Britton Robinson); pH (3 a 7); potencial inicial (0,0-0,2 V); potencial final (0,8-1,4 V); amplitude de pulso (10-100 mV); velocidade de varredura (5,0-100 mVs⁻¹). A validação do método foi realizada por meio da determinação de sete figuras de mérito para cada composto, tais como linearidade, faixa linear, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), repetitividade, precisão intermediária e seletividade. Para a análise dos ácidos fenólicos, as melhores condições foram: tampão fosfato, pH 3,0 ou 4,0, amplitude de pulso de 50mV e velocidade de varredura de 5,0-50 mVs⁻¹. Para os flavonóides, as melhores condições de análise foram: tampão fosfato pH 4,0 ou 5,0, amplitude de pulso de 50 mV e velocidade de varredura de 10-50 mVs⁻¹. Em relação à validação do método, os resultados foram: faixa linear entre $5,0 \times 10^{-7}$ M a $7,0 \times 10^{-5}$ M, linearidade com coeficientes de correlação >0,99; LD entre $2,2 \times 10^{-7}$ M e $1,2 \times 10^{-5}$ M; LQ ente $5,0 \times 10^{-7}$ M e $1,5 \times 10^{-5}$ M; repetitividade (precisão intra-dia) com desvio padrão relativo (DPR) abaixo de 17%; precisão intermediária (precisão inter-dia) com DPR abaixo de 38%. Em relação à seletividade, os ácidos fenólicos apresentaram picos de oxidação mais sensíveis em potenciais de 0,2-0,9 V, já os flavonóides em potenciais de 0,2-0,5 V. Os resultados mostraram que o método voltamétrico otimizado e validado apresenta resposta linear, baixos limites de detecção, quantificação, precisão e seletividade satisfatórias, sendo excelente alternativa para a avaliação da capacidade antioxidante e determinação de compostos fenólicos em cogumelos.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Ciências Naturais, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Química Analítica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Micologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

073 - PATOGENICIDADE DE UM ISOLADO DE *Fusarium* EM SEMENTES E MUDAS DE MOGNO (*Swietenia macrophylla* KING) [Pathogenicity of a *Fusarium* strain in seeds and seedlings of mahogany (*Swietenia macrophylla* King)]

Castro, M.T.¹; Borges, R.C.F.²; Montalvão, S.C.L.²; Monnerat, R.G.³

O fungo *Fusarium* spp. é amplamente distribuído ao redor do mundo, encontrado em todos os tipos de solo ou associados a inúmeras espécies vegetais, podendo sobreviver por longos períodos de forma saprofítica sobre a matéria orgânica do solo. Podem, também, causar inúmeras doenças em diferentes espécies vegetais, sobretudo em culturas de importância econômica, causando grandes prejuízos. Os trabalhos relacionados à ocorrência de fungos em sementes de espécies florestais são, em sua maioria, baseados em testes de detecção em sementes, sem a preocupação de verificar a patogenicidade em mudas. O gênero *Fusarium* foi encontrado associado a sementes de mogno e pode ser transmitido para as plantas, causando problemas radiculares e tombamento de plântulas em mudas. Este trabalho teve como objetivo avaliar a patogenicidade de *Fusarium* em sementes e mudas de mogno (*Swietenia macrophylla* King). Quarenta sementes de mogno foram utilizadas para verificar a patogenicidade de *Fusarium*, divididas em dois lotes com 20 sementes cada. Um lote foi utilizado para a inoculação do fungo por contato direto com o micélio o outro para a testemunha. A avaliação foi feita 30 dias após a semeadura e então o fungo foi reisolado das plantas com sintomas, completando o Postulado de Koch. Como resultado, das 40 sementes plantadas, apenas 25 germinaram, as outras 15 apresentaram sintomas e sinais, o que indica que o fungo isolado é potencialmente patogênico. Sabe-se que isolados patogênicos de *Fusarium* mostram um alto nível de especificidade ao seu hospedeiro, mas a relação destes isolados com isolados não patogênicos ainda não foi avaliada. Estudos moleculares e morfológicos estão sendo realizados para definir com precisão a espécie do isolado patogênico ao mogno.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

074 - PRIMEIRO RELATO DE *Phomopsis* sp. EM FOLHAS DE MOGNO NO BRASIL [First report of *Phomopsis* sp. on mahogany in Brazil]

Castro, M.T.¹; Borges, R.C.F.²; Montalvão, S.C.L.²; Eckstein, B.³; Monnerat, R.G.⁴

O mogno (*Swietenia macrophylla* King) é uma espécie arbórea muito utilizada na arborização urbana, por ser uma planta rústica e bem adaptada a diversas regiões do Brasil. Ao analisar folhas de mogno em árvores situadas em Brasília, Distrito Federal, foram observados sintomas de doença fúngica. Com o objetivo de relatar, identificar o fungo causador de manchas em folhas de mogno e testar sua patogenicidade em mudas, amostras de ramos e folhas de mogno foram coletadas em Brasília, Distrito Federal. O material foi analisado preliminarmente com o auxílio de microscópio estereoscópio e sinais do fungo foram retirados com uma agulha esterilizada, colocados em lâminas de vidro com azul de algodão e visualizado em microscópio ótico. Para o isolamento do patógeno, regiões das folhas contendo sintomas e sinais foram esterilizadas e colocadas em meio BDA para crescimento e esporulação. Uma cultura pura foi feita a partir da diluição da massa conidial em água destilada e uma colônia do fungo crescido foi transferida para outra placa com meio BDA para crescimento e esporulação. Quanto à avaliação da patogenicidade em mudas, foram utilizadas 80 mudas de mogno, onde 40 foram inoculadas com o fungo e 40 serviram como testemunha, sem inoculação. Suspensões de conídios obtidas de cultura pura do fungo serviram como fonte de inóculo. A suspensão foi misturada com água destilada, depois pulverizada nas folhas de mogno e o material foi mantido em câmara úmida por 72 horas. A avaliação começou três dias após a inoculação e perdurou até 30 dias, até o completo desenvolvimento do patógeno e então reisolado das folhas com sintomas, completando o Postulado de Koch. Como resultado, o fungo encontrado foi identificado como *Phomopsis*, apresentando conidiomas enegrecidos e conídios do tipo alfa e beta, característicos do gênero. Quanto ao teste de patogenicidade em mudas, 70% reapresentaram os sintomas e o patógeno foi reisolado, comprovando que as manchas observadas em folhas de mogno foram causadas pelo fungo em questão. Portanto, esse é o primeiro relato de *Phomopsis* causando doença foliar em mogno e, provavelmente, trata-se de uma nova espécie dentro do gênero.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Agronomia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Fitopatologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

075 - SEQUENCIAMENTO DO GENOMA DE DOIS POTEXVÍRUS QUE INFECTAM PALMA (*Opuntia cochenillifera*) [Genome sequencing of two Potexvirus infecting Princkly pear (*Opuntia cochenillifera*)]

Sanches, M.M.¹; Lamas, N.S.²; Alves-Freitas, D.M.T.³; Reis, M.²; Arieta-Sousa, J.⁴; Romano, E.⁴; Melo, F.L.⁵; Ribeiro, S.G.⁶

Os vírus do gênero *Potexvirus* são amplamente difundidos em diferentes gêneros da família Cactaceae. Plantas de palma (*Opuntia cochenillifera*) coletadas em Pernambuco foram propagadas e cultivadas em casa de vegetação. O RNA de 45 plantas assintomáticas foi extraído e o sequenciamento do transcriptoma foi feito via *shotgun*, usando a plataforma *Illumina Hi-seq 2000*, com o objetivo de estudar genes relacionados ao estresse hídrico. A montagem *de novo* dos *reads* foi realizada com o programa VELVET e vários *contigs* foram avaliados como sendo derivados de potexvirus. Para melhor caracterizar essas seqüências virais, foi utilizado o software *Geneious* para realizar pesquisas BLASTn. Comparações das seqüências de nucleotídeos (nt) e de aminoácidos (aa) foram feitas com outros membros do gênero *Potexvirus* utilizando os programas SDT e CLUSTALW. Foram identificados dois genomas de potexvirus distintos. Um genoma compreende 6.636bp e foi identificado como o *Schlumbergera virus X* (SchVX), com a identidade de 94% para a seqüência do genoma completo. As identidades para as seqüências de nt dos genes da polimerase e CP são 93% e 94%, respectivamente. As seqüências de aminoácidos deduzidas para os genes da polimerase e CP tem 97% de identidade com SchVX. O outro genoma montado (OcPotex) tem 6.664 pb. A seqüência de nt do genoma completo tem maior identidade de 73% a 74%, com diferentes estirpes de *Cactus virus X* (CVX) e *Zygocactus virus X* (ZyVX). As seqüências de nucleotídeos e aminoácidos de genes da polymerase e CP do isolado OcPotex também compartilham identidades semelhantes com os da CVX e ZyVX, exigindo estudos adicionais para a atribuição taxonômica conclusiva de OcPotex.

Apoio: Cenargen e CNPq.

¹ Virologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Biologia Molecular, mestrado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

³ Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Virologia Molecular, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁶ Virologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Recursos Vegetais

076 - ANÁLISE DA ATIVIDADE DAS REGIÕES PROMOTORAS DOS GENES *BbrizRPS15a* E *BbrizRPL41* DE *Brachiaria brizantha* EM *Arabidopsis thaliana* [Analysis of the activity of the promoter region of genes *BbrizRPS15a* and *BbrizRPL41* of *Brachiaria brizantha* in *Arabidopsis thaliana*]

Morais, D.P.¹; Pereira, J.A.²; Florentino, L.H.³; Lacerda, A.L.M.⁴; Dusi, D.M.A.⁵; Carneiro, V.T.C.⁵

O desenvolvimento de ferramentas biotecnológicas é uma importante etapa durante o processo de seleção e desenvolvimento de cultivares de interesse agrônomo. Atualmente, temos poucos vetores para expressão direcionada em gramíneas. Quando nos referimos a promotores específicos para expressão em órgãos reprodutivos este número é ainda menor. Desta forma, a identificação de promotores específicos é essencial para auxiliar no desenvolvimento de técnicas moleculares em auxílio ao melhoramento. Em trabalhos anteriores da equipe da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia foram identificados diversos genes com alta expressão em ovários de *B. brizantha*, dentre eles os genes *BbrizRPS15a* e *BbrizRPL41*, os quais codificam duas proteínas ribossomais com alta expressão em órgãos reprodutivos (ovários e anteras) e raiz quando comparada à expressão em folhas. As regiões promotoras destes genes foram isoladas e clonadas em um vetor de expressão para monocotiledôneas, contendo fusão transcricional com genes repórteres. As regiões promotoras putativas de *BbrizRPS15a* e *BbrizRPL41* foram capazes de dirigir a expressão transiente do gene repórter GUS em unidades embriogênicas de arroz. Para melhor caracterizar a atividade destas regiões promotoras, elas foram clonadas no vetor pCambia 1391z, no qual o promotor de interesse dirige a expressão do gene repórter GUS. Estas construções foram utilizadas para transformar plantas de *Arabidopsis thaliana* por meio da técnica de *Floral Dip*. Neste trabalho as progênies F2 e F3 destas plantas foram analisadas. As sementes foram germinadas em meio de cultura contendo higromicina 50 mg/L. As plântulas resistentes foram crescidas em substrato em sala de cultura a 22°C e 12 h de fotoperíodo. Flores e folhas foram coletadas e incubadas em solução de X-Gluc para análise da expressão de *gus*. Os resultados foram analisados em microscópio estereoscópico e fotodocumentados. As regiões promotoras de *BbrizRPS15a* e *BbrizRPL41* foram capazes de dirigir a expressão de GUS para folhas, pétalas, estigma e anteras. Estes resultados indicam que as regiões promotoras estudadas têm potencial para utilização em futuras análises de expressão de genes de interesse em órgãos reprodutivos.

Apoio: Cenargen e CNPq.

¹ Agroecologia, graduação, Instituto Federal de Brasília-IFB

² Biomedicina, graduação, Universidade Paulista-UNIP

³ Biologia Celular e Molecular, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista CNPq

⁵ Biologia Celular e Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

077 - ANÁLISE DA SUPEREXPRESSÃO DO GENE EXPANSINA *LIKE-B* DE *Arachis duranensis* EM PLANTAS TRANSGÊNICAS DE *Arabidopsis thaliana* SUBMETIDAS A DÉFICIT HÍDRICO [Analysis of *Arachis duranensis* Expansin like-B overexpression on *Arabidopsis thaliana* transgenic plants under water deficit]

Silva, A.K.¹; Williams, C.C.V.²; Guimarães, L.A.²; Colombo, C.A.³; Araújo, A.C.G.⁴; Guimarães, P.M.⁴; Brasileiro, A.C.M.⁴

Entre os principais estresses ambientais que acarretam redução na produtividade agrícola, estima-se que a seca é responsável pela perda de mais de 500 milhões de dólares por ano. Dessa forma, é essencial um entendimento dos mecanismos moleculares e genéticos que levam à tolerância à seca. Recentemente, a equipe da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, analisou o perfil global de expressão gênica. Análise *in silico* de sequências obtidas em duas bibliotecas de cDNA (plantas estressadas e não-estressadas) de plantas de *Arachis duranensis* submetidas a déficit hídrico gradual, gerou 1.514 sequências diferencialmente expressas. Dentre essas, foi identificado o gene Expansina *like B* (755 bp) que pertence a uma complexa superfamília de genes envolvidos no relaxamento da parede celular no controle da perda de água. Para tanto, o cDNA de *AdEXLB* foi sintetizado e clonado no cassete de expressão do vetor binário pPZP-201BK EGFP sob o controle do promotor de Actina de *Arabidopsis thaliana* e do terminador nos de *Agrobacterium tumefaciens* incluindo o gene repórter da *enhanced green fluorescent protein* (eGFP) e o de seleção que confere resistência à higromicina (HygR). O presente trabalho teve como objetivo principal identificar e clonar o gene que codifica Expansina *like-B* de *A. duranensis* (*AdEXLB*), estudar os efeitos de sua superexpressão e avaliar seu potencial como gene candidato para conferir tolerância à seca. Um total de 7 eventos transgênicos T0 foram obtidos a partir de dois ensaios de transformação pela seleção em higromicina a 25 mg/L e pela observação da fluorescência da eGFP em plântulas resistentes, utilizando-se um estereoscópio com luz UV. Para cada evento T0, uma média de 70 plantas (geração T1) transgênicas foram obtidas em uma segregação média de 50%. Dessas, 40 foram transplantadas para substrato e submetidas a ensaio de déficit hídrico, tendo como controle plantas transgênicas contendo somente eGFP e HygR. PCR e RT-PCR foram realizadas na geração T1 para confirmação da inserção e expressão do transgene. As plantas submetidas ao ensaio de déficit hídrico serão analisadas quanto à sua resposta fisiológica e fenotípica para posterior avaliação do potencial do gene *AdEXLB* como candidato para conferir tolerância à seca em plantas via transgenia.

Apoio: Embrapa, CNPq e Capes.

¹ Genética, Melhoramento e Biotecnologia, mestrado, Instituto Agronômico de Campinas-IAC

² Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Genética e Biotecnologia Vegetal, Ph.D., Instituto Agronômico de Campinas-IAC

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

078 - ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA DE LINHAGENS DE MELÃO UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES [Genetic variability analysis of melon lines using molecular markers]

Carvalho, N.¹; Canela, F.M.²; Ferreira, M.A.³; Buso, G.S.C.⁴

O melão (*Cucumis melo* L.) é uma espécie pertencente à família *Curcubitaceae*. O melão do tipo Amarelo é o mais consumido no Brasil, e o tipo pele de sapo tem seu consumo ascendente no agronegócio nacional. A produção de melão no território brasileiro em 2011 foi próxima de 500 mil Toneladas e a região Nordeste comanda a produção. Devido a essa crescente demanda, programas de melhoramento genético vêm sendo desenvolvidos e marcadores moleculares ISSR (Inter Simple Sequence Repeats), vem sendo utilizados na caracterização e organização da variabilidade genética para identificar linhagens que possibilitem maior ganho genético quando cruzadas. O objetivo do presente trabalho foi analisar linhagens de melão do tipo Pele de Sapo, desenvolvidas no programa de melhoramento genético de melão da Embrapa Hortaliças utilizando marcadores ISSR. As 58 linhagens analisadas foram selecionadas a partir de avaliações de caracteres de vigor, resistência a pragas e doenças e qualidade de fruto e poderão ser utilizadas na obtenção de híbridos. Foram avaliados 35 primers ISSR, destes, 16 apresentaram polimorfismos entre as linhagens e somente 13 foram utilizados para esse estudo, pois produziram fragmentos bem definidos que facilitaram a análise. A similaridade das linhagens, analisadas com 74 marcadores ISSR polimórficos, variou de 40% a 98%. Na análise de agrupamento, dois principais grupos foram formados com 40 % de similaridade entre eles. No primeiro grupo, foram formados 2 subgrupos onde a linhagem 1 foi a mais divergente, com 55% de similaridade com as linhagens restantes dentro de seu subgrupo. No segundo grupo também foram formados 2 subgrupos, sendo o primeiro composto apenas pela linhagem número 25 e o segundo composto por outras 24 linhagens restantes, com 57,5% de similaridade entre estas.

Apoio: Capes, CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e Universidade de Brasília.

¹ Agronomia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

³ Química, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Genética Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

079 - ANÁLISE DE EXPRESSÃO GÊNICA QUANTITATIVA E IN SITU DE *BbrizGID1* EM PLANTAS APOMÍTICAS E SEXUAIS [Quantitative and *in situ* analyses of *BbrizGID1* gene expression in sexual and apomictic plants]

Ferreira, L.G.¹; Irsigler, A.S.T.²; Rodrigues, J.C.M.²; Florentino, L.H.³; Gomes, A.C.M.M.³; Dusi, D.M.A.²; Carneiro, V.T.C.²

Brachiaria brizantha, forrageira da família Poaceae, possui genótipos de reprodução sexual e assexual, por apomixia, e é um sistema para o estudo das vias moleculares envolvidas nos dois modos de reprodução. Plantas apomíticas e sexuais apresentam saco embrionário com estrutura diferenciada do tipo *Panicum* e *Polygonum*, respectivamente. Há evidências de que fitohormônios estejam envolvidos na estruturação de sacos embrionários em plantas sexuais de outras espécies, mas não há estudos em plantas apomíticas. Resultados obtidos por RNA-seq indicaram genes envolvidos na via de fitohormônios sendo diferencialmente expressos em ovários de *B. brizantha* sexual e apomítica, entre eles um gene homólogo a *GID1* (*Gibberellin Insensitive Dwarf1*) de *Arabidopsis*. O objetivo deste trabalho foi caracterizar e analisar a expressão de *GID1-like* de *B. brizantha*, nomeado *BbrizGID1*. Dois acessos foram analisados, BRA 002747, diplóide ($2n=2x=18$) sexual e BRA00591, tetraplóide ($2n=4x=36$) apomítico facultativo. RT-qPCR foi realizado em ovários nos diferentes estádios do desenvolvimento de plantas sexuais e apomíticas. Para análise por *Southern blot* foi usado DNA dos dois genótipos e um fragmento de 300 pb de *BbrizGID1*. Para observar o padrão de expressão foi realizado hibridização *in situ* em secções semi-finas de ovários e anteras na megasporogênese. Os resultados obtidos por RT-qPCR validaram os dados do RNA-seq com alta expressão nos estádios iniciais do desenvolvimento do saco embrionário apomítico, quando comparado com a expressão em sexuais. Resultados obtidos do *Southern blot* sugerem que *BbrizGID1* está presente em cópia única no genoma nos dois genótipos. A hibridização *in situ* de *BbrizGID1* resultou em uma forte marcação nas células nucelares, incluindo o meiócito e a célula-mãe do megásporo, de plantas apomíticas. Estes resultados sugerem um possível envolvimento do gene *BbrizGID1* durante o desenvolvimento reprodutivo de *B. brizantha*.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Celular e Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biologia Celular e Molecular, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

080 - ANÁLISE FUNCIONAL DA REGIÃO PROMOTORA DE HAPLÓTIPOS DO GENE *CcDREB1D* DE *Coffea canephora* VIA TRANSFORMAÇÃO DE *Nicotiana tabacum* [Functional analysis of the promoter region of haplotypes from *CcDREB1D* gene of *Coffea canephora* via transformation in *Nicotiana tabacum*]

Aquino, S.O.¹; Carneiro, F.A.²; Rego, E.C.S.³; Duarte, K.E.¹; Alves, G.S.C.⁴; Marraccini, P.⁵; Andrade, A.C.⁶

Os genes *DREB* desempenham um papel chave nas respostas das plantas aos estresses abióticos. Nas plantas de *Coffea canephora* Conilon cultivadas em condição de déficit hídrico, resultados mostraram uma maior expressão do gene *CcDREB1D* nas folhas dos clones 14 (tolerante a seca) que nas folhas do clone 22 (sensível a seca). Após sequenciamento, polimorfismos nas regiões promotoras deste gene *CcDREB1D* nos dois clones, indicaram a participação de três haplótipos (15, 16 e 17) com as combinações 15-16 para o clone 14 e 15-17 para o clone 22. Visando estudar a participação desses polimorfismos na resposta à seca desses promotores, várias construções gênicas, com diferentes fragmentos das regiões promotoras do gene *CcDREB1D*, foram arquitetadas no vetor binário pBI101 e testadas via transformação genética de *Nicotiana tabacum*, a fim de avaliar a capacidade dos fragmentos controlarem a expressão do gene repórter β -glucuronidase (*uidA*). Testes histoquímicos indicaram uma forte atividade GUS correspondente ao controle positivo (pBI121) enquanto, nenhuma atividade GUS foi detectada para o controle negativo (pBI101). Tanto nas folhas, como nas raízes, uma expressão basal do gene *uidA* foi verificada nas plantas T0 e T1 sem estresse, sobretudo para as construções contendo as versões mais longas (D) do *pDREB1D*. Para analisar as respostas desses promotores aos estresses abióticos, as plantas transformadas foram submetidas a ensaios de desidratação, de temperatura elevada e de frio, e a expressão do gene *uidA* foi analisada por testes histoquímicos GUS e PCR quantitativa em tempo real (qPCR). Experimentos de qPCR confirmaram uma leve indução do gene *uidA* nas folhas das plantas T0 transformadas com pD22-hp17D::*uidA* nas condições de estresse de desidratação e térmico. Para a mesma construção, uma indução da atividade GUS foi também observada com o estresse de frio. No entanto, os níveis de expressão deste gene foram muito inferiores quando comparado a expressão do controle positivo (pBI121). Esses resultados mostram que os *pDREB1D* de *C. Canephora* funcionam como promotores fracos em tabaco, onde o fragmento pD22-hp17D é induzido por estresses abióticos. Além disso, os mecanismos moleculares implicados na regulação da expressão gênica em resposta aos estresses aplicados são conservados entre cafeeiro e tabaco, e o funcionamento dos promotores pDREB1D dos clones 14 e 22 de cafeeiro é diferencial em tabaco, sugerindo que os polimorfismos identificados nesses promotores participam da regulação destas sequências.

Apoio: Consórcio Pesquisa Café, CIRAD e Capes Cofecub.

¹ Biotecnologia, mestrado, Universidade Federal de Lavras-UFLA

² Ciências Genômicas e Biotecnologia, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

⁴ Biotecnologia, doutorado, Universidade Federal de Lavras-UFLA

⁵ Biologia Celular e Molecular de Plantas, Ph.D., CIRAD UMR AGAP, Montpellier

⁶ Genética Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

081 - ANÁLISE FUNCIONAL DO GENE ÓRFÃO *CcUNK8* DE *Coffea canephora* VIA TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE *Setaria viridis* [Functional analysis of the orphan gene *CcUNK8* of *Coffea canephora* via genetic transformation in *Setaria viridis*]

Duarte, K.E.¹; Vieira, N.G.²; Rêgo, E.C.S.³; Martins, P.K.⁴; Ribeiro, A.P.¹; Cunha, B.A.B.D.⁵; Molinari, H.B.C.⁶; Kobayashi, A.K.⁶; Sousa, C.A.F.⁷; Marraccini, P.⁸; Andrade, A.C.⁹

As plantas respondem e se adaptam as condições de estresses com uma série de alterações morfológicas, fisiológicas e moleculares. Ao nível molecular, a expressão diferencial de genes para tolerar as condições adversas é um bom indicativo da resposta da planta ao meio ambiente. Encontrar a função destes genes pode facilitar o entendimento da relação planta-ambiente e planta-patógeno. No intuito de entender os processos que levam algumas plantas a terem uma maior tolerância à seca, ocorreram avanços na descoberta e descrição de genes envolvidos neste processo. Algumas destas sequências não possuem nenhuma similaridade com sequências depositadas nos bancos de dados públicos, e são denominadas “no hits” ou genes órfãos. O aparecimento destes genes pode estar relacionado a respostas adaptativas específicas para cada espécie de condições adversas durante o processo evolutivo. O gene *CcUNK8*(UNKNOWN) foi previamente identificado em plantas de *Coffea canephora* Conilon como potencialmente envolvido no processo de tolerância à seca. Dados de qPCR mostraram que esse gene apresentou maior expressão em folhas estressadas de clones tolerantes a seca que nas folhas do clone 22 sensível a seca. Para estudar a função biológica deste gene, ele foi clonado no T-DNA de um vetor de transformação e sobre o controle do promotor constitutivo pUBI de milho. Essa construção foi usada para realizar a transformação genética de *Setaria viridis* via o uso de *Agrobacterium tumefaciens*. Após verificar a presença do T-DNA nas plantas transformadas T₀, a expressão deste gene foi quantificada por meio de qPCR nas folhas das plantas T₀. Além de confirmar a expressão do gene *CcUNK8* nas folhas das plantas transformadas, alguns eventos apresentaram também um acúmulo de biomassa maior de parte aérea e radicular que nas plantas não transformadas. Foram observadas ainda diferenças no acúmulo de biomassa entre o mesmo evento quando submetido ao tratamento irrigado e não-irrigado.

Apoio: INCT-Café e Capes.

¹ Biotecnologia Vegetal, doutorado, Universidade Federal de Lavras-UFLA, bolsista Capes

² Biotecnologia Vegetal, mestrado, Universidade Federal de Lavras-UFLA

³ Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

⁴ Genética e Melhoramento, Ph.D., Universidade Federal de Viçosa-UFV

⁵ Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

⁶ Agronomia, Ph.D., Embrapa Agroenergia

⁷ Fisiologia Vegetal, Ph.D., Embrapa Agroenergia

⁸ Biologia Celular e Molecular de Plantas, Ph.D., CIRAD UMR AGAP, Montpellier

⁹ Genética Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

082 - AVALIAÇÃO DA PRODUÇÃO DE RESVERATROL EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Arachis* [Resveratrol production evaluation within *Arachis* species]

Carvalho, P.A.S.V.¹; Agostini-Costa, T.S.², Gimenes, M.G.³

O gênero *Arachis* é dividido em nove seções, dentre elas a seção *Arachis* que possui o amendoim cultivado. As espécies silvestres do gênero apresentam proximidade filogenética e níveis mais elevados de resistência a fungos e nematóides, sendo também utilizadas como forrageiras e ornamentais. O resveratrol é uma fitoalexina que além de conferir resistência à planta também é um poderoso antioxidante capaz de prevenir câncer e cardiopatias. Esta pesquisa tem como objetivo investigar a produção de resveratrol em espécies da seção *Arachis* e outras seções pertencentes ao gênero. Foram avaliados e comparados os níveis de resveratrol em diferentes espécies de cinco seções do gênero *Arachis*. Após três meses de cultivo em casa de vegetação, folhas foram destacadas e submetidas à luz ultravioleta (UV) por 2h e 30min. Quinze horas após o tratamento foi feita a extração do metabólito. O experimento de indução foi realizado em três blocos com três repetições analíticas. Os resultados obtidos mostraram que as amostras controle apresentam concentrações muito baixas do composto. Foi observado ainda que todas as espécies tratadas são capazes de produzir o resveratrol, inclusive espécies de outras seções do gênero que apresentam maiores distâncias filogenéticas em relação ao amendoim cultivado. Além disso, a *A. lignosa* que produziu maior concentração de resveratrol, 702,93 µg/g, não pertence à seção *Arachis*, é da seção *Procumbente*, o que corrobora com a necessidade de uma maior investigação em relação a todo o gênero *Arachis*. A confirmação de que espécies de outras seções podem produzir resveratrol contribui para exploração destas espécies no pré-melhoramento de amendoim ou na produção industrial de resveratrol.

Apoio: Embrapa, CNPq e Capes.

¹ Genética, doutorado, Universidade Estadual Paulista-UNESP

² Farmácia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Genética, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

083 - AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE SECAGEM DE SEMENTES DE CEVADA (*Hordeum vulgare* L.) PARA FINS DE CONSERVAÇÃO [Evaluation of drying methods of barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds to conservation purposes]

Almeida, F.F.¹; Soares, F.M.¹; Pádua, J.G.²

A cevada (*Hordeum vulgare* L.) é um cereal de grande importância econômica e com potencial de crescimento no cenário agrícola brasileiro. A conservação de germoplasma de cevada é um fator chave para possibilitar a identificação de genes de interesse ao melhoramento do cultivo. Assim, a identificação de metodologias adequadas para a secagem de sementes que sejam capazes de minimizar efeitos de possíveis danos resultantes da dessecação constitui um importante fator para conferir maior qualidade ao processo de conservação, garantindo a disponibilidade de germoplasma de elevada qualidade fisiológica. Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo determinar o efeito do processo de dessecação sobre a qualidade fisiológica e a integridade do DNA de sementes de cevada. As sementes dos quatro acessos que foram utilizados apresentavam conteúdo de umidade variando de 4 a 6%. Estas foram mantidas em ambiente com 100% de umidade relativa e temperatura de 20°C para elevação e uniformização do conteúdo de umidade. Em seguida, foram submetidas a três diferentes métodos de secagem: sílica gel, estufa de renovação/circulação de ar e câmara de secagem. Metade das sementes foi reidratada para avaliar a capacidade de reparo do DNA. Os efeitos da dessecação foram verificados por meio do teste de germinação de acordo com a Regra de Análise de Sementes (2009). Foram avaliadas as seguintes características de vigor: índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento de radícula (CR), de parte aérea (CPA) e total (CT). A integridade do DNA foi avaliada por meio de eletroforese em gel de agarose 1,5% visualizado com brometo de etídio. As avaliações relacionadas à integridade do DNA das sementes ainda estão sendo conduzidas. Os parâmetros avaliados mostraram-se estatisticamente equivalentes, não sendo observada qualquer diferença entre os métodos de secagem analisados. Assim, é possível, com base nos parâmetros avaliados, utilizar qualquer metodologia de secagem sem causar danos à semente.

Apoio: Cenargen.

¹ Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

² Conservação e Fisiologia de Germoplasma, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

084 - CARACTERIZAÇÃO DE PLANTAS DE FUMO EXPRESSANDO CONSTITUTIVAMENTE UM GENE PÓLEN-ESPECÍFICO DE *Ricinus communis* [Characterization of tobacco plants constitutively expressing a pollen-specific gene from *Ricinus communis*]

Rego, T.F.C.¹; Cabral, G.B.²; Cipriano, T.M.³; Aragão, F.J.L.²

As plantas naturalmente têm a capacidade de suportar ambientes desfavoráveis e essa capacidade de resistir ao ambiente é determinada geneticamente. Mecanismos de proteção em nível molecular têm sido estudados, como DREB (dehydration-responsive element-binding), fatores de transcrição (FT) identificados e caracterizados inicialmente em *Arabidopsis thaliana*. FT iniciam uma cascata gênica conferindo tolerância à desidratação, salinidade ou baixas temperaturas, ou seja, estresses abióticos. Em trabalho anterior de nosso laboratório, foi isolado um gene DREB de mamona (RcDREB1) e seu promotor dirigiu a expressão do gene gus, que foi detectada apenas em grãos de pólen de plantas transgênicas de tabaco no momento da antese. O gene RcDREB1 pode ter função importante na manutenção da viabilidade do pólen quando liberado no ambiente durante a antese. O objetivo deste trabalho foi obter plantas transgênicas de tabaco expressando o gene RcDREB1 sob controle de um promotor constitutivo para testar a hipótese de que essas plantas poderão ser tolerantes ao estresse hídrico, ou se apenas os polens apresentarão sua viabilidade alterada. Para alcançar este objetivo, o gene RcDREB1 foi inserido no vetor pCAMBIA3300 que contém o promotor constitutivo 35SCaMV para dirigir sua expressão. As plantas resistentes ao glifosinato de amônio obtidas após a cocultura com *Agrobacterium tumefaciens* foram analisadas por PCR e pelo teste de detecção da proteína fosfinotricinaacetiltransferase (PAT), onde foram confirmadas a presença e a expressão dos transgenes em 11 plantas positivas. Plantas transgênicas e não transgênicas (controle) foram submetidas a testes de viabilidade do pólen nos quais as anteras de flores em antese foram coletadas e imediatamente colocadas em placas umedecidas que foram incubadas em estufa a 38° C por uma hora. Após esse período as placas foram retiradas da estufa e após os papéis toalha terem sido removidos retornaram para a estufa a 38° C por mais uma hora (estresse hídrico). Foi realizado um controle com anteras de plantas transformadas e não transformadas que não foram incubadas a 38° C, entretanto ocorreu a mesma variação de umidade (controle sem estresse hídrico). Os grãos de pólen das plantas não transformadas (controle) apresentaram 25% de viabilidade, e os de plantas transformadas 52% de viabilidade. Os pólenes de plantas não transformadas que passaram por estresse hídrico (estufa a 38° C) apresentaram 6% de viabilidade, enquanto os polens das plantas com o gene RcDREB1 17% de viabilidade. Os polens das plantas com o FT RcDREB1 apresentaram o triplo de viabilidade quando submetidos ao estresse, quando comparados com os polens das plantas não transformadas também estressadas. Este resultado indica que o gene RcDREB1 pode ter importância na manutenção da viabilidade do pólen. A maior viabilidade dos pólenes em condições de estresse pode aumentar a taxa de polinização/fecundação, o que elevaria a produção das culturas de grãos/sementes.

Apoio: Cenargen, CNPq/UnB e Capes.

¹ Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Celular e Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Botânica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

085 - CARACTERIZAÇÃO E ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA DE UMA PR1 DE CUPUAÇUZEIRO INFECTADO COM *Moniliophthora perniciosa* [Characterization and gene expression analysis of a PR1 from cupuassu infected with *Moniliophthora perniciosa*]

Santana, R.J.S.¹; Falcão, L.L.²; Gramacho, K.P.³; Albuquerque, P.S.B.⁴; Alves, R.M.⁵; Micheli, F.⁶; Marcellino, L.H.⁷

O cupuaçuzeiro, [*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.], é uma das frutíferas com maior importância econômica para o estado do Pará e norte do Brasil. O seu fruto possui uma alta aceitação no mercado e uma ampla aplicação comercial, com um total aproveitamento do fruto, utilizando-se a polpa, semente e casca. A cultura do cupuaçuzeiro é afetada pela doença vassoura-de-bruxa causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, que gerou grandes perdas econômicas na cultura do cacau e ameaça a expansão do cupuaçuzeiro. Estudos genéticos sobre a relação planta-patógeno podem revelar dados importantes para a compreensão da doença, identificando genes envolvidos neste tipo de interação. Em diversas plantas, genes do tipo PR (proteínas relacionadas à patogênese) vêm sendo descritos na literatura como agentes importantes no mecanismo de defesa da planta. O estudo de genes e mecanismos de resistência em cupuaçu dá os seus primeiros passos para fornecer um conhecimento a respeito de genes do tipo PR. Este trabalho teve como objetivo caracterizar uma proteína do tipo PR de cupuaçuzeiro *in silico* e analisar sua expressão gênica em genótipos resistente e suscetível à vassoura-de-bruxa. A sequência analisada foi selecionada de um banco de sequências obtidas por RNA-Seq. A caracterização *in silico* foi realizada para identificar domínios conservados, peso molecular, família proteica e possível função molecular, além de localização celular. A expressão gênica foi analisada por qPCR, utilizando meristema apical de genótipos resistentes e suscetíveis, infectados com *M. perniciosa*. Desta maneira foi possível caracterizar uma proteína PR que foi denominada tgPR1, de 17 KDa, pI de 5,87, peptídeo sinal de 24 resíduos de aminoácidos e pertencente a subfamília SCP_PR-1_like, com possível atividade antifúngica. Quando analisada por qPCR, observou-se um aumento de expressão nos diferentes tempos de infecção com o patógeno em relação à planta controle. Assim, a tgPR1 torna-se um importante alvo de estudo para melhor compreensão da relação entre o cupuaçuzeiro e o fungo causador da vassoura-de-bruxa.

Apoio: Capes e Embrapa.

¹ Genética e Biologia Molecular, mestrado, Universidade Estadual de Santa Cruz-UESC

² Produção Vegetal, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Fitopatologia Florestal, Ph.D., Centro de Pesquisas do Cacau-CEPEC/CEPLAC

⁴ Fitopatologia, Ph.D., Centro de Pesquisas do Cacau-CEPLAC-PA

⁵ Genética e Melhoramento de Plantas, Ph.D., Embrapa Amazônia Oriental

⁶ Fisiologia Celular e Molecular das Plantas, Ph.D., Universidade Estadual de Santa Cruz-UESC

⁷ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

086 - CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE UMA POPULAÇÃO DE *Coffea canephora* CONILON VISANDO UM PROGRAMA DE SELEÇÃO GENÔMICA AMPLA (SGA) EM CAFEEIRO [Molecular and phenotypic characterization of a *Coffea canephora* conilon population aiming at a Genome Wide Selection Program (GWS) in coffee]

Carneiro, F.A.¹; Rêgo, E.C.S.²; Aquino, S.O.³; Costa, T.S.⁴; Lima, E.A.⁵; Rocha, O.C.⁶; Rodrigues, G.C.⁷; Carvalho, M.A.F.⁸; Marraccini, P.⁹; Grattapaglia, D.¹⁰; Bartholo, G.F.⁸; Guerra, A.F.⁸; Andrade, A.C.¹⁰

O café é uma das *commodities* agrícolas mais importantes e a produção cafeeira comercial baseia-se principalmente em duas espécies: *Coffea arabica* e *C. canephora*. *Coffea canephora* é uma espécie alógama apresentando autoincompatibilidade genética, garantindo uma grande variabilidade, essencial em programas de melhoramento. Visando o estabelecimento de ferramentas de auxílio para acelerar o melhoramento genético desta espécie, avanços significativos em genômica do cafeeiro têm ocorrido nos últimos anos. Assim, a recente conclusão do sequenciamento do genoma completo de *C. canephora* servirá de referência para utilização em trabalhos avançados de genética molecular, aplicados diretamente ao melhoramento genético desta espécie. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar e caracterizar a diversidade fenotípica e genotípica de uma população de 3500 plantas de *C. canephora* Conilon, cultivada em Planaltina-DF no campo experimental da Embrapa Cerrados, com vistas ao estabelecimento de um programa de seleção genômica ampla (SGA) em cafeeiro. As avaliações iniciaram em 2012, observando-se várias características agrônômicas como vigor, seca de ponteiro, ramificação secundária, suscetibilidade à ferrugem, e precocidade do fruto. A produção (em litros) de cada planta foi também medida durante três safras (2012, 2013 e 2014). As características físicas, como número de defeitos, peneira e peso de 100 grãos, dos frutos foram avaliadas, assim como o potencial hídrico foliar de antemanhã (Ψ_{am}), avaliado após o período de seca sofrido pela população. Todas essas avaliações permitiram selecionar 403 plantas cobrindo a diversidade de cada um dos parâmetros avaliados. Essas plantas foram genotipadas por sequenciamento (GBS) usando a técnica nextRAD o que permitiu a identificação de mais de 4.000 SNPs. Esses SNPs poderão ser utilizados para o desenvolvimento de modelos de predição genômica. Esse trabalho mostrou que existe potencial para o cultivo de *C. canephora* Conilon em altitudes semi-elevadas (\approx 1000 m) em condições irrigadas, e que, a população em estudo apresenta diversidade fenotípica e genotípica adequada para a implementação de um programa de seleção genômica ampla em cafeeiro.

Apoio: Consórcio Pesquisa Café e INCT-Café.

¹ Ciências Genômicas e Biotecnologia, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

³ Biotecnologia, mestrado, Universidade Federal de Lavras-UFLA

⁴ Biotecnologia, doutorado, Universidade Federal de Lavras-UFLA

⁵ Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

⁶ Agronomia, Ph.D., Embrapa Cerrados

⁷ Fisiologia Vegetal, Ph.D., Embrapa Informática Agropecuária

⁸ Fisiologia Vegetal e Fitotecnia, Ph.D., Embrapa Café

⁹ Biologia Celular e Molecular de Plantas, Ph.D., CIRAD UMR AGAP, Montpellier

¹⁰ Genética Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

087 - CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DOS DIFERENTES MÓDULOS DE UM PROMOTOR DE ALGODÃO EM *Arabidopsis thaliana* [Functional characterization of the different modules of a cotton promoter in *Arabidopsis thaliana*]

Lins, P.¹; Lourenço, I.T.²; Grossi-de-Sá, M.F.²

Promotores gênicos regulam a expressão de genes, quantitativamente e qualitativamente. As sequências regulatórias possuem elementos cis e trans atuantes que são responsáveis por direcionar e posicionar corretamente a RNA polimerase para que haja o processo de transcrição do DNA. O promotor CAMV35S de caráter constitutivo vem sendo largamente utilizado em construções de vetores controlando a expressão de genes de interesse em sistemas vegetais. Esse promotor é expresso de forma diferenciada em diferentes tecidos da planta, o que o torna inadequado em alguns casos. Um fator limitante é o fato da sequência do promotor 35S ser viral, podendo ser muitas vezes não reconhecida pelo transgene e ser silenciada. A busca por promotores que sejam tecido-específicos e de organismos semelhantes, ou seja, de plantas, é crucial para diminuir ou conter o gasto energético de transgenes de forma desnecessária, e garantir que a sequência de nucleotídeos não seja silenciada. A escolha de promotores que forneçam uma alta expressão do gene de interesse na planta é de suma importância, preferencialmente em tecidos específicos, ou em resposta a estímulos específicos. Visando a busca de promotores de plantas mais eficientes, um promotor de algodão (UceA 1.7) isolado pelo nosso grupo mostrou ser altamente expresso em tecidos como raiz e botão floral, quando comparado ao promotor 35S ao ser utilizado para expressar o gene repórter GUS. Os estudos aqui propostos têm como objetivo caracterizar funcionalmente a expressão de cinco diferentes módulos desse promotor em plantas de *Arabidopsis thaliana*. Esses módulos do promotor de algodão foram clonados no vetor binário de transformação de plantas pKGWFS7 controlando a expressão do gene repórter GUS. Essas construções foram inseridas em *Agrobacterium tumefaciens* para transformação de plantas de *Arabidopsis thaliana*, via floral dipping. Um total de 90 plantas foi transformado, sendo 18 para cada um dos módulos do promotor, obtendo assim a geração T0 de plantas. As sementes dessas plantas foram coletadas, geração T1, e foram selecionadas em placas de meio MS contendo o agente seletivo canamicina 50 mg/ml. As plantas que se desenvolveram foram transplantadas para o solo para produção das sementes T2. Assim que obtidas as plantas da geração T2, serão feitos os experimentos de qPCR para análise quantitativa e ensaios histoquímicos para análise qualitativa de GUS nos diferentes tecidos (flor, folha, caule e raiz) de *A. thalianae*, dessa forma, caracterizar os diferentes módulos do promotor UceA1.7.

¹ Ciências Genômicas e Biotecnologia, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Biologia Molecular e Biotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

088 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA RESPOSTA DE RESISTÊNCIA DE *Coffea canephora* 'CLONE 14' INFECTADO COM *Meloidogyne paranaensis*
[Molecular characterization of the molecular responses of *Coffea canephora* clone 14 upon infection with *Meloidogyne paranaensis*]

Lima, E.A.¹; Carneiro, F.A.²; Costa, T.S.³; Rêgo, E.C.S.⁴; Jorge Júnior, A.⁵; Furlaneto, C.⁶; Marraccini, P.⁷; Carneiro, R.M.D.G.⁸; Andrade, A.C.⁹

O café é uma das principais *commodities* mundiais e uma importante fonte de renda para países produtores. No entanto, estresses bióticos e abióticos são grandes fatores limitantes à sua produção. No Brasil, nematóides das galhas causam considerável redução de produtividade, e o uso de plantas resistentes é o método mais promissor para o controle de *Meloidogyne* spp. O objetivo do presente trabalho é a caracterização por meio de sequenciamento em larga escala (RNAseq) dos mecanismos moleculares relacionados a resistência de *Coffea canephora* a *M. paranaensis* por meio da identificação de genes apresentando perfis de expressão diferenciais entre os clones e comparando com os testes de infecção previamente realizados. Assim, RNAs foram extraídos de raízes de plantas dos clones 14 e 22 de *C. canephora* Conilon, respectivamente identificados como resistentes e suscetíveis a *M. paranaensis*. Estes foram cultivados em areia, antes de serem inoculadas com os nematóides. As raízes das plantas infectadas foram coletadas em diferentes momentos (4, 8, 12, 20, 32 e 45 DAI [dias após a inoculação]), bem como as raízes de uma planta saudável usada com controle. Uma parte dos RNAs foi tratada para experiências de RNAseq, enquanto outra porção foi mantida para validação de expressão por PCR quantitativa (qPCR). Após analisar os dados de sequenciamento, observou-se uma forte expressão de genes relacionados com mecanismos de resistência (como os que codificam cisteína proteinase e lignina) no clone 14, principalmente durante as últimas fases da infecção (45 DAI). Para o mesmo clone, a expressão dos genes codificando para as proteínas com o domínio NBS-LRR (nucleotide-binding site leucinerich repeat) associadas ao processo de resistência ou de proteína de resistência a doenças (ex. Rpp1) a maior expressão, em ambos os casos, ocorreu logo após infecção (4 DAI) até 20 DAI. 10 genes candidatos para a resistência *M. paranaensis* foram selecionados e a expressão gênica dos mais promissores está agora na fase de ser realizada por meio de qPCR.

Apoio: Cenargen, Consórcio-Café e CNPq/UnB.

¹ Fitopatologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Ciências Genômicas, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB, bolsista Café

³ Biotecnologia Vegetal, Ph.D., Universidade Federal de Lavras-UFLA

⁴ Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP, bolsista Café

⁵ Fitopatologia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

⁶ Fitopatologia, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁷ Biologia Celular e Molecular de Plantas, Ph.D., CIRAD UMR AGAP, Montpellier

⁸ Nematologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁹ Genética Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

089 - CATÁLOGO DE VARIEDADES DE FAVA (*Phaseolus lunatus* L.): FERRAMENTA DE DIÁLOGO DO BANCO ATIVO PARA AÇÕES DE INTRODUÇÃO E REINTRODUÇÃO DE GERMOPLASMA EM COMUNIDADES TRADICIONAIS [Catalogue of varieties of Fava (*Phaseolus lunatus* L.): of active bank dialogue tool for the actions of introduction and reintroduction of germplasm in traditional communities]

Moraes, C.S.¹; Dilly, J.L.²; Dias, T.³; Burle, M.L.⁴

A fava (*Phaseolus lunatus* L.) está presente nos hábitos alimentares de diversas culturas. Relacionar a diversidade dessa espécie pode ser importante para pesquisas que, por exemplo, objetivem a reintrodução de variedades cultivadas que foram perdidas por comunidades tradicionais. O presente trabalho tem por objetivo a construção de um catálogo das variedades do Banco Ativo de Germoplasma de *P. lunatus* da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Foram obtidas informações que estavam pendentes para alguns dos acessos do banco: peso de 100 sementes, fotografias de sementes e dados de passaporte. Posteriormente, os dados de passaporte serão projetados em Sistema de Informações Geográficas, gerando uma classificação dos acessos de acordo com o bioma da coleta. Para a composição do catálogo, será representada a máxima variabilidade considerando-se os aspectos de origem da coleta, morfologia das sementes e porte. As variedades serão amostradas por bioma de origem. Também serão incluídas as variedades tradicionais coletadas em reservas indígenas. O catálogo conterá os seguintes dados: fotografia das sementes em diferentes ângulos, nome comum, código do banco ativo, número do coletor, local de coleta (município, estado) e coordenadas geográficas, porte e peso de 100 sementes. O processo de catalogação encontra-se em andamento. Espera-se que catálogos como este tenham grande utilidade para a ampliação da abertura dos bancos de germoplasma públicos e que facilitem o diálogo com possíveis demandantes.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Gestão Ambiental, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

³ Ecologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Recursos Genéticos Vegetais, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

090 - CLONAGEM DO PROMOTOR DE UM GENE RESPONSIVO À SECA ISOLADO DE MILHETO (*Pennisetum glaucum*) PARA ANÁLISE EM PLANTAS TRANSGÊNICAS [Cloning of the promoter of a drought responsive gene isolated from pearl millet (*Pennisetum glaucum*) for analysis in transgenic plants]

Quintanilha, M.V.T.¹; Silva-Werneck, J.O.²; Almeida, J.D.³; Barros, L.M.G.²; Falcão, L.L.⁴; Marcellino, L.H.²

Plantas transgênicas são amplamente utilizadas para atender demandas da agricultura, como, por exemplo, plantas mais resistentes a pragas, doenças ou à seca. O ajuste da expressão do transgene é de fundamental importância para obtenção de uma planta com as características desejadas, e a utilização de promotores adequados é essencial. Por isso, há muito interesse em isolar e estudar promotores de plantas, considerando as mais diversas características: expressão temporal, tecido-específica ou condições ambientais. No caso de plantas transgênicas resistentes à seca, por exemplo, é importante a expressão de transgenes quando a planta é submetida a tal estresse. O gene *osr40c1*, identificado em arroz, está relacionado à resistência da planta ao estresse hídrico e à salinidade, tendo sido descrito também em outras gramíneas, e.g. milho (*Pennisetum glaucum*). O promotor do gene tipo *osr40c1* de milho foi previamente isolado em nosso laboratório, utilizando o Kit Genome Walker (Clontech). Produtos de PCR de aproximadamente 1200 pb, provenientes das 3 bibliotecas geradas com o kit (*EcoRV*, *StuI* e *PvuII*), foram selecionados, inseridos em *E. coli* DH5α e sequenciados. O objetivo deste trabalho foi clonar o promotor de *osr40c1* de milho em vetores de expressão para futuras análises em plantas transgênicas. As sequências de seis clones foram inicialmente analisadas *in silico* por BLASTn e ClustalW. O fragmento proveniente da biblioteca *PvuII* foi selecionado e inserido em vetores binários, à montante do gene repórter *gus*. Estas construções foram usadas para transformar *E. coli* DH5α por eletroporação. O DNA dos clones obtidos foi purificado e digerido com as enzimas de restrição *SalI* e *SpeI* para confirmação da presença do promotor. A análise das sequências dos clones contendo produtos de PCR revelou que os fragmentos clonados eram muito similares, apresentando 162 pb correspondentes à região codificadora do gene, e ~ 1 Kb correspondente à região promotora. O promotor selecionado (P6) foi inserido em vetores binários para transformação de mono e dicotiledôneas. Estes vetores foram clonados em *E. coli* e purificados. As digestões com as enzimas de restrição *SalI* e *SpeI* geraram fragmentos do tamanho esperado, indicando que os vetores estão corretos. Posteriormente, estes vetores serão inseridos em plantas para avaliação da atividade promotora do fragmento isolado.

Apoio: Embrapa e CNPq (PIBIC).

¹ Biologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Genética e Melhoramento de Plantas, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Produção Vegetal, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

091 - EFEITOS DA SENESCÊNCIA CELULAR VEGETAL NA SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO COMO MODELO O EXTRATO AQUOSO DE *Annona muricata* [Role of plant senescence in the green synthesis of silver nanoparticles using *Annona muricata* leaf extract]

Ávidos, F.D.¹; Bonatto, C.C.²; Silva, L.P.³

Nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido, gradualmente, incorporadas em uma série de produtos, os quais abrangem uma gama enorme de possibilidades, desde aplicações eletrônicas até o desenvolvimento de sensores biológicos. As características ópticas, elétricas e termais únicas da prata quando esta se encontra em escala nanométrica são consideradas como o principal fator para o crescente interesse na síntese de AgNPs. Entretanto, os métodos de síntese mais utilizados atualmente aplicam solventes nocivos ao meio ambiente. Já a síntese verde, que se baseia na utilização de moléculas presentes em extratos biológicos como iniciadores da rota de síntese, emerge como uma alternativa ecologicamente sustentável, bem como financeiramente mais vantajosa. Dessa maneira, a utilização do extrato aquoso de folhas de graviola (*Annona muricata*) se justifica como uma escolha viável para a realização da síntese de nanopartículas de prata. O objetivo do presente estudo foi avaliar as propriedades ópticas e estruturais de AgNPs sintetizadas utilizando um extrato aquoso de folhas jovens e um extrato aquoso de folhas senescentes de *A. muricata*, bem como observar se existe alguma diferença nas mesmas, quando as partículas são sintetizadas com cada um dos dois extratos. As nanopartículas de prata sintetizadas com extratos de folhas de *A. muricata* (Am-AgNPs) foram obtidas incubando os extratos aquosos jovem e senescente das folhas de *A. muricata* (0,6 g/mL) com AgNO₃ (1 mM) à temperatura ambiente por 24h. A síntese foi monitorada por espectrofotometria a 450 nm. As Am-AgNPs foram avaliadas por espectrofotometria de absorção, espalhamento de luz dinâmico, potencial Zeta de superfície, microscopia de força atômica e espectrometria de massa. Os perfis de síntese observados pelo monitoramento realizado por espectrofotometria mostraram-se distintos para as Am-AgNPs sintetizadas com cada um dos dois extratos. As Am-AgNPs sintetizadas com o extrato aquoso de folhas jovens apresentaram forma esférica, diâmetro médio de $43,0 \pm 4,7$ nm, índice de polidispersividade de $0,27 \pm 0,010$ e estabilidade coloidal incipiente de $-24,1 \pm 4,3$ mV. Já as Am-AgNPs sintetizadas com o extrato aquoso de folhas senescentes apresentaram forma esférica, diâmetro médio de $207,6 \pm 10,1$ nm, índice de polidispersividade de $0,594 \pm 0,012$ e estabilidade coloidal incipiente de $-18,03 \pm 1,5$ mV. Os perfis moleculares das Am-AgNPs dos extratos aquoso jovem e senescente obtidos por espectrometria de massa MALDI-TOF mostraram diferenças significativas. Um método de síntese verde de AgNPs a partir de extratos de folhas de *A. muricata*, ecologicamente viável e de custo baixo foi desenvolvido, tendo como principal parâmetro para comparação a senescência celular das células vegetais. As AgNPs obtidas pelos dois extratos apresentaram diferenças significativas nos seus parâmetros ópticos, estruturais e moleculares.

Apoio: Embrapa, UnB e CNPq.

¹ Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Animal, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

092 - ENGENHARIA GENÉTICA PARA PRODUÇÃO DE ÔMEGA-3 EM ALFACE **[Genetic engineering to produce omega-3 in lettuce]**

Pierdoná, H.L.¹; Citadin, C.T.²; Cabral, G.B.³; Aragão, F.J.L.³

Os ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (LCPUFAs) como o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), pertencentes ao grupo dos ômega-3, são componentes de fundamental importância na dieta humana. Seu consumo é associado a diversos benefícios à saúde, em especial, no desenvolvimento do cérebro e melhor capacidade cognitiva, no desenvolvimento da retina e principalmente redução significativa nos riscos de doenças cardiovasculares e doenças degenerativas do cérebro. Esses ácidos graxos de cadeia longa são encontrados principalmente em peixes de águas frias como o salmão, cavala, arenque e sardinhas, produzidos, principalmente por microalgas marinhas de sua cadeia alimentar. Os LCPUFAs ômega-3 não são encontrados em plantas ou outros tipos de carne presentes na dieta ocidental. No presente trabalho objetivamos o desenvolvimento de novas variedades comerciais de alface (*Lactuca sativa*) produtoras dos ácidos graxos EPA e DHA. Para este propósito, dois vetores de expressão constitutiva foram sintetizados, um contendo a sequência codificadora das primeiras enzimas da via biossintética de LCPUFAs, delta-6-dessaturase, elongase 1 e uma delta-5 dessaturase, e outro contendo os genes das duas últimas enzimas, elongase 2 e delta-4-dessaturase ambas sequências presentes na microalga *Thalassiosira pseudonana*. Estes vetores foram inseridos em *Agrobacterium tumefaciens* que foi utilizada para transformar plantas de alface. Até agora, três linhagens foram regeneradas e análise de PCR confirmou a presença dos genes da segunda parte da rota metabólica, dois deles já estão produzindo sementes e foram confirmadas progênies transgênicas. Eventos com genes da primeira parte da rota estão sendo gerados. Mais procedimentos de co-cultura para ambos os vetores estão sendo realizados a fim de obter o maior número possível de explantes regenerados e assim aumentar a chance de eventos capazes de produzir os ácidos graxos EPA. Para obtenção de plantas produzindo DHA, eventos positivos contendo os dois vetores serão cruzados e a reconstrução genética completa da rota avaliada nas progênies.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, Universidade de Brasília-UnB, bolsista CNPq

³ Biologia Celular e Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

093 - ENGENHARIA METABÓLICA DE SOJA E EDIÇÃO DE GENOMA DE GENES ASSOCIADOS A ÁCIDOS GRAXOS [Metabolic and genomic engineering of genes associated with polyunsaturated acids]

Alves, D.T.¹; Coelho, M.C.²; Murad, A.M.³; Cunha, N.B.⁴; Viana, G.V.⁵; Coelho, C.M.⁶; Rech, E.L.⁵

O biodiesel vem se destacando como uma importante fonte de energia renovável e sustentável. Dentre as matérias-primas utilizadas para a produção do biodiesel, a soja (*Glycine max*) se destaca pelo alto teor e qualidade do óleo de suas sementes, domínio do sistema de produção em larga escala e custo reduzido quando comparado a qualquer outro óleo. Sementes de soja apresentam um perfil de ácidos graxos composto principalmente de 13% de ácido palmítico (16:0), 4% de ácido esteárico (18:0), oléico 18% ácido (18:1), ácido linoléico 55% (18:2) e 10% de ácido linolênico (18:3). Devido a essa alta proporção de poliinsaturados ácidos graxos, o óleo de soja é oxidativamente instável e oxidado, fato que pode comprometer o desempenho do motor e utilização como opção viável de biocombustível. Para maximizar as características de um bom biodiesel, tem-se sugerido o desenvolvimento de um óleo rico em ácido oléico e com baixo teor de ácidos graxos saturados. Os genes FAD2-1A e FAD2-1B são importantes na conversão do óleo monoinsaturado (oléico) em óleo poliinsaturado (linoléico). Transcription activator-like effector nucleases (TALENs) foram desenhados a fim de se obter mutações tipo nula em dois genes importantes da via metabólica de ácidos graxos e gerar linhagens com maior teor de ácido oléico. Neste trabalho através de cromatografia gasosa, foram obtidas três linhagens independentes com o conteúdo de ácido oleico aumentado, variando 31-66%.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Celular, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Ciência da Computação, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

⁵ Biotecnologia e Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Genética Molecular, Ph.D., Pesq. Visitante, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

094 - ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* E A PRODUÇÃO DO ANTIOXIDANTE RESVERATROL

Carvalho, P.A.S.V.¹; Brasileiro, A.C.M.²; Leal-Bertioli, S.C.²; Silva, J.P.³; Agostini-Costa, T.S.⁴; Gimenes, M.A.⁵

O amendoim é endêmico da América do Sul e cultivado em mais de 100 países. O Brasil possui grande variedade de espécies silvestres do gênero *Arachis*, um enorme acervo de genes a ser explorado. Nosso trabalho avaliou espécies silvestres de *Arachis* em relação à produção de resveratrol, uma fitoalexina produzida em função de estresses encontrada no amendoim, que por sua atividade antioxidante, pode ser utilizada na prevenção de câncer e doenças cardiovasculares. Pela primeira vez foi investigado o teor de resveratrol em paralelo com a expressão do gene da resveratrol sintase (RS) em espécies do gênero *Arachis*. Foram avaliados quatro genótipos: o tetraplóide cultivado (*Arachis hypogaea*), seus dois parentais silvestres diplóides (*A. duranensis* e *A. ipaënsis*) e um tetraplóide artificial. Após três meses de cultivo, folhas foram submetidas ao UV por 2h e 30min. Quinze horas após o tratamento, extrações de RNA e do metabólito foram feitas. Os resultados mostraram significativo acúmulo de resveratrol, 193,66 a 371,97µg/g, principalmente nas espécies silvestres. Comportamento semelhante foi observado em relação às análises de expressão gênica. Maior expressão de RS foi observada em espécies silvestres induzidas chegando a ser até 60 vezes maior em relação ao controle. Tais resultados permitem concluir que as alterações no conteúdo de resveratrol podem ser correlacionadas com os níveis do gene RS, indicando um controle transcricional. Além disso, a sequência gênica RS pode ser utilizada como um potencial marcador molecular, permitindo a identificação de espécies silvestres que produzem mais resveratrol. Essas informações irão auxiliar programas de pré-melhoramento no desenvolvimento de uma cultivar mais resistente e com maior valor nutricional.

Apoio: Cenargen e CNPq/Unesp.

¹ Genética, doutorado, Universidade Estadual Paulista-UNESP

² Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Estatística, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Farmácia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Genética, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

095 - ESTUDO DA EXPRESSÃO DA EXPANSINA, DEHIDRINA E LIPOCALINA POR HIBRIDIZAÇÃO IN SITU EM RAÍZES DE ESPÉCIES SILVESTRES DE *Arachis* EM RESPOSTA À SECA E INFECÇÃO POR NEMATÓIDES [Studies of expansin, dehydrin and lipocalin expression via *in situ* hybridization in roots of wild *Arachis* species in response to drought and nematode infection]

Cunha, G.C.R.¹; Guimarães, L.A.²; Silva, M.S.³; Videira, C.⁴; Bispo, R.⁵; Brasileiro, A.C.M.³; Willians, C.C.V.²; Guimarães, P.M.³; Araújo, A.C.G.³

Estudos vêm sendo realizados utilizando espécies silvestres de *Arachis* como *A. stenosperma* (resistente ao nematóide de galhas *Meloidogyne arenaria*); *A. duranensis* e *A. gregory* (respostas transpiratórias diferenciadas quando sob déficit de água), buscando identificar sequências gênicas que possam conferir melhores respostas a estresses bióticos e abióticos. Análises *in silico* e por RT-PCR indicaram expressão diferencial de alguns genes em raízes de plantas submetidas à seca ou inoculadas com nematóides: expansina *like-B* (*AdEXLB*), dehidrina SK2 (*AdDHN*) e lipocalina (*AsLip*). Esses genes estão, portanto, potencialmente associados à resposta de defesa a patógenos ou maior tolerância à seca. Visando contribuir para elucidação dos mecanismos associados a esses processos, o perfil de expressão desses genes foi espacial e temporalmente determinado em raízes de *A. stenosperma* (*AdEXLB* e *AsLip*), *A. gregory* (*AdEXLB*) e *A. duranensis* (*AdDHN*) utilizando hibridização *in situ*. Raízes de plantas inoculadas com nematóides foram coletadas 3, 6 e 9 dias após a inoculação (DAI) e raízes de plantas submetidas a déficit gradual de água coletadas quando suas taxas de transpiração reduziram (70-80%), com os controles correspondentes. As amostras foram fixadas, desidratadas, incluídas em resina metacrilato e seccionadas. Os genes foram amplificados por PCR, clonados em pGEM-T Easy® e linearizados. Foram sintetizadas sondas de RNA marcadas com digoxigenina. A hibridização foi evidenciada por imunodeteção. Sinais após hibridização com a sonda anti-senso de *AdEXLB* foram observados em epiderme radicular de *A. gregory* estressadas e em raízes de *A. stenosperma* coletadas 3, 9 e 16 DAI. Nenhum dos controles apresentou sinais, nem as seções de raízes hibridizadas com sonda senso. No entanto, a hibridização com *AdDHN* gerou sinais com mesma intensidade em raízes estressadas e controles em *A. duranensis*, na epiderme radicular. Nenhum dos controles apresentou sinais, nem as seções hibridizadas com sonda senso. A hibridização com *AsLip* gerou sinais evidentes na região do feixe vascular das raízes de *A. stenosperma* coletadas 6 e 9 DAI, enquanto aquelas coletadas 3 DAI e controles não apresentaram sinais. Esses resultados corroboram dados já obtidos, que mostraram uma modulação preferencialmente positiva na expressão desses genes em resposta ao patógeno e à seca, além de identificar a especificidade de expressão desses genes em tecidos radiculares.

Apoio: Cenargen.

¹ Biomedicina, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

² Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

⁵ Botânica, Universidade de Brasília-UnB, bolsista CNPq

096 - ESTUDO DOS GENOMAS A E B DE *Arachis* [Study of A and B genomes from *Arachis*]

Vidigal, B.S.¹; Araújo, A.C.G.²; Bertioli, D.J.³; Guimarães, P.M.²; Nascimento, E.F.M.B.⁴

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é um alotetraploide com origem recente e cujo genoma tem aproximadamente 2,8 Gb, composto majoritariamente por sequências repetitivas. Este estudo relata uma investigação do componente repetitivo presente nas espécies parentais do amendoim, *A. duranensis*, provável doador do genoma A e *A. ipaënsis*, provável doador do genoma B, por meio de análises das suas sequências genômicas completas, bem como de clones selecionados da biblioteca BAC de *A. duranensis*. Nos clones, foram identificados dez retrotransposons LTR distintos, enquanto que nas sequências genômicas completas, 81 famílias de retrotransposons LTR foram identificadas em *A. duranensis* e 89 em *A. ipaënsis*, ocupando aproximadamente 28,5% e 27,6% do genoma A e B, respectivamente. Dessas famílias, 37 representam a maior parte do conteúdo repetitivo nos dois genomas, sendo que os elementos FIDEL e Feral são os mais frequentes. Esses resultados mostram que uma parte substancial do componente altamente repetitivo desses genomas é explicada por um número relativamente pequeno de retrotransposons LTR, seus fragmentos e LTRs-solo. A maioria das datas de transposição estimadas para esses retrotransposons foi posterior a 3,5 milhões de anos atrás, data estimada da divergência dos genomas A e B, indicando que esses retrotransposons LTR tiveram um papel notável na organização desses genomas. Análises de hibridização *in situ* por fluorescência (FISH), utilizando sondas obtidas a partir das sequências dos genes que codificam a transcriptase reversa de cada família de retrotransposon LTR, mostraram sinais de hibridização detectáveis múltiplos e dispersos em vários, mas não em todos os cromossomos dos componentes genômicos A e B de amendoim, com marcação predominantemente ao longo dos braços dos cromossomos. Comparações entre sequências homeólogas dos genomas A e B indicaram alta semelhança no conteúdo gênico, porém grandes diferenças no conteúdo repetitivo, mostrando que os retrotransposons identificados neste estudo, juntamente com outros elementos repetitivos têm desempenhado um papel importante na remodelação do genoma ao longo da evolução, especialmente em regiões intergênicas.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Genética, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁴ Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

097 - EXPRESSÃO HETERÓLOGA DA CP-THIONINA II EM *Nicotiana* sp. VISANDO À PROTEÇÃO CONTRA BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS [Heterologous expression of Cp-thionina II in *Nicotiana* sp. aiming to protect plant pathogenic bacteria]

Carrijo, J.¹; Cunha, N.B.²; Murad, A.M.³; Dias, S.C.²; Lacorte, C.⁴

As defensinas representam uma classe de peptídeos com atividade antimicrobiana, encontrados em plantas, ricos em cisteínas e conhecidos pelo seu efeito deletério principalmente contra fungos. Neste estudo, a expressão heteróloga do peptídeo Cp-thionina II, isolado da semente do feijão de corda, foi avaliada em plantas transgênicas de fumo. O fragmento da sequência de nucleotídeos do AMP Cp-thionina II foi clonado no vetor binário pCambia 1300 contendo um peptídeo sinal para direcionamento para o retículo endoplasmático (CP-ER) e apoplasto (CP-Apo). Também foi feita uma construção contendo uma cauda de histidina e um sítio de clivagem pela enteroquinase (6His-CP-ER). Os vetores foram transferidos para *Agrobacterium tumefaciens* (linhagem EHA105) e utilizados para transformação genética de *Nicotiana tabacum*. Os explantes foram cultivados em meio MS (Murashige & Skoog, 1962) com o agente de seleção higromicina (25 mg/L) ou canamicina (100 mg/L), dependendo da construção. Calos crescidos sob seleção foram subcultivados em meio sem reguladores de crescimento. Os brotos regenerados foram cortados e cultivados em meio MS sem reguladores de crescimento, para enraizamento. O DNA-genômico de plântulas foi analisado por PCR para a confirmação da presença das sequências exógenas. Em 12 das 25 plantas com a construção 6His-CP-ER, 10 das 33 com a construção CP-ER e 14 das 40 com a construção Cp-Apo foram confirmada a presença do gene Cp-thionina II. As plantas transgênicas foram transferidas para a casa de vegetação e foram analisadas com relação à presença do gene CP-thionina II, do nível de expressão e segregação do transgene na progênie. Posteriormente, plantas da geração F1 serão inoculadas com bactérias fitopatogênicas para avaliação do potencial antimicrobiano conferido pela expressão heteróloga da CP-thionina II.

¹ Ciências Genômicas e Biotecnologia, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

² Biologia Molecular, Ph.D., Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Ciência da Computação, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biotecnologia Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

098 - IMPORTÂNCIA DA GESTÃO AMBIENTAL PARA A CONSERVAÇÃO DA AGROBIODIVERSIDADE NA ÁREA INDÍGENA KRAHÔ

Castro, L.R.¹; Dias, T.A.B.²

As primeiras preocupações com o meio ambiente começaram após a Revolução Industrial, ocorrida no século XVIII, quando se observou a velocidade com a qual os recursos naturais começaram a exaurir, acompanhando o aumento acelerado do avanço tecnológico. Esse desgaste é um fator importante nas alterações nos ecossistemas e nas mudanças climáticas. A Gestão Ambiental é uma área atual que cuida do manejo dos recursos naturais, visando a melhor forma de utilizá-los para que o sistema possa repor-se e não seja tão afetado, mas o papel da gestão ambiental não é exclusivamente a preservação da natureza, soluções para poluição do ar, água, solos. Também implica no manejo regional do ambiente e do que impacta a região, implica também na união de todos os setores da sociedade em busca de solução para que se possa haver um desenvolvimento sustentável. Já a agrobiodiversidade é a domesticação e a preservação da diversidade de tudo que está relacionado à agricultura e a fatores que implicam direta e indiretamente na alimentação humana, como variedades de animais, plantas, microorganismos, ambientes de cultivo e cultura alimentar. A relação entre Gestão da Agrobiodiversidade e Gestão Ambiental é uma relação de desenvolvimento sustentável. Nos dias atuais exige-se que dos avanços tecnológicos da agricultura uma conciliação com a preservação do meio ambiente. Este tipo de produção ao longo do tempo tem sido visto nas comunidades indígenas e tradicionais, que são comunidades mais ligadas ao meio ambiente e ao desenvolvimento sustentável. Porém, a população indígena vem crescendo nos últimos anos, o que acarreta o crescimento de sua produção agrícola. Este crescimento de produção tem feito com que a biota natural demore mais a se recuperar, forçando os indígenas cada vez mais a expandirem suas roças, desmatando as reservas. Com o intuito de avaliar esse crescimento e o seu impacto esta sendo feito o georreferenciamento da área indígena Krahô, localizada no norte de Tocantins e considerada a maior área preservada do Cerrado. O trabalho servirá para uma avaliação da dinâmica do crescimento populacional e da sua influencia aos danos no meio ambiente e na agrobiodiversidade, podendo trazer soluções para que essa área prossiga como exemplo de preservação e uso sustentável.

Apoio: Cenargen e UnB.

¹ Gestão Ambiental, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Ecologia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

099 - INDUÇÃO DE EMBRIOGÊNESE SOMÁTICA EM SEMENTES MADURAS DAS CULTIVARES TANZÂNIA E MOMBAÇA DE *Panicum maximum* [Induction of somatic embryogenesis in mature seeds of *Panicum maximum* cultivars Tanzânia and Mombaça]

Pereira, J.A.¹; Moraes, D.P.²; Cabral, G.B.³; Jank, L.⁴; Dusi, D.M.A.³; Carneiro, V.T.C.³

As cultivares Tanzânia e Mombaça de *Panicum maximum* são importantes forrageiras de reprodução apomítica o que implica em ausência de variabilidade nas suas populações. O desenvolvimento de metodologias de regeneração para as duas cultivares abrirá perspectivas para futuros trabalhos de introdução de características agrônomicas desejáveis por transformação genética. O objetivo deste trabalho foi testar a capacidade de indução de calos embriogênicos em sementes das duas cultivares inoculadas em diferentes meios de cultura. Sementes maduras das cultivares Tanzânia e Mombaça foram descascadas, desinfestadas e inoculadas nos meios de cultura, M1.3 ou MIC, com 2,4-D e MS contendo 5 ou 10 mg/L de picloram. Após 30 dias, os calos obtidos foram avaliados e transferidos para os respectivos meios de indução em repicagens sucessivas para multiplicar os calos embriogênicos. Calos embriogênicos obtidos foram cultivados em meio de regeneração MS3. Nas condições testadas de cultura, a cultivar Mombaça formou calos nos meios M1.3 e MIC e os calos embriogênicos formaram brotos no meio de regeneração (MS3). Calos friáveis e embriogênicos de todas as cultivares estão em subcultivos para testar a capacidade de manutenção do potencial embriogênico das células no estado embriogênico. Entre os meios de cultura testados, a combinação de meios M1.3/MS3 foi mais eficiente para induzir embriogênese somática nas cultivares de *P. maximum* testadas.

Apoio: Cenargen e CNPq (PIBIC).

¹ Biomedicina, graduação, Universidade Paulista-UNIP

² Agroecologia, graduação, Instituto Federal de Brasília-IFB

³ Biologia Celular e Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Melhoramento de Plantas, Ph.D., Embrapa Gado de Corte

100 - INTRODUÇÃO E EXPRESSÃO DO GENE DA ARCELINA DO FEIJÃO COMUM (*Phaseolus vulgaris* L.) EM FEIJÃO-CAUPI [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] PARA RESISTÊNCIA AO CARUNCHO *Zabrotes subfasciatus* [Introduction and expression of Arcelin gene of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] for resistance to weevil *Zabrotes subfasciatus*]

Duarte, M.A.G.¹; Aragão, F.L.²; Cabral, G.B.²

O feijão-caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp, possui importância agroeconômica no cenário brasileiro por adaptar-se a diversas regiões do País. Em relação ao seu aproveitamento, essa leguminosa pode ser totalmente utilizada, desde os grãos até o bagaço. No entanto, a produtividade do feijão-caupi torna-se baixa devido a alguns fatores abióticos, como a seca e baixa fertilidade do solo e a fatores bióticos, como o ataque pelos insetos. A predação pelo bruquídeo *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Col.: Bruchidae) pode ocorrer desde o desenvolvimento do grão no campo até o seu armazenamento, uma vez que suas larvas alimentam-se do interior desses grãos. Em genótipos silvestres de feijão (*Phaseolus vulgaris*) foram identificados altos níveis de resistência ao bruquídeo que estavam associados a uma classe particular de proteínas de sementes, as Arcelinas (Arc), que são componentes de uma família multigênica das Lectinas e codificadas pelo locus APA [Arcelina (Arc)/ fitohemaglutinina (PHA)/ inibidor da α -amilase (α AI)]. Oito variantes da arcelina já foram descritos, porém, em relação à defesa induzida por herbivoria, foi observado que a Arc1 mostrou ter um efeito inibitório mais eficiente no controle desse caruncho. Neste trabalho, o método de biobalística foi utilizado com o objetivo de obter feijão-caupi resistente ao *Z. subfasciatus*, pela introdução e expressão do gene Arc-1. Nesse intuito, foi construído um vetor de expressão contendo o gene que expressa a proteína Arc1, denominado Seq-1, o qual foi clonado em um plasmídeo pAHAS, contendo o gene AtAhas de *Arabidopsis thaliana* que confere tolerância a imidazolinonas. Após bombardeamento, os eixos embrionários foram transferidos para um meio de indução de multibrotação contendo um agente seletivo (meio MS de sais basais, suplementada com 5 mg L⁻¹ de BAP, 3% de sacarose, imazapyr 250 nM e 0,6% de ágar, Sigma, pH 5,8) e transferidos para uma sala de crescimento com fotoperíodo de 16 h. Ao aparecimento das primeiras folhas foram realizadas análises por PCR com a amplificação dos genes do AtAhas e Arc-1 e análises da atividade da enzima acetolactato sintase. Três plantas T₀ foram confirmadas para a presença dos genes e, foram transferidas para vasos adubados e foram aclimatadas em casa de vegetação. Suas progênes estão sendo analisadas para detectar a presença do gene inserido e o seu fator de segregação, para em seguida realizar bioensaios em relação à resistência ao caruncho *Z. subfasciatus*.

Apoio: Cenargen e Capes/UnB.

¹ Botânica, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Celular e Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

101 - MECANISMO MOLECULAR DE RESPOSTA À SECA MEDIADA POR ABA EM CLONES DE *Coffea canephora* [Molecular mechanism of ABA mediated responses to drought in *Coffea canephora* clones]

Cotta, M.G.¹; Marraccini, P.²; Bocs, S.²; Rego, E.C.S.³; Aquino, S.O.⁴; Carneiro, F.A.⁵; Costa, T.S.⁶; This, D.²; Andrade, A.C.⁷

O déficit hídrico é um dos principais fatores abióticos que afeta a produção e a qualidade dos grãos de café. Como consequência do aquecimento global, as áreas cafeeiras estão sendo geograficamente deslocadas, sendo imprescindível o desenvolvimento de variedades melhor adaptadas às condições climáticas desfavoráveis. Clones tolerantes de *C. canephora* têm sido caracterizados como plantas vigorosas e produtivas durante anos em condições de déficit hídrico. O ácido abscísico (ABA) é um fito-hormônio que age como regulador central na resposta das plantas à seca. Recentemente, novos receptores intracelulares envolvidos na percepção e sinalização deste hormônio foram identificados em *Arabidopsis thaliana*. Um mecanismo de transdução de sinal de ABA foi proposto, o qual envolve um sistema tripartite de proteínas composto (1) das proteínas receptoras PYR/PYL/RCAR, (2) das fosfatases PP2C (regulador negativo) e (3) das quinases SnRK2 (regulador positivo). O objetivo deste estudo foi identificar e caracterizar os genes ortólogos codificando as proteínas desse sistema tripartite em *C. canephora*. Com este propósito, as sequências de *Arabidopsis*, uva, tomate, citrus e arroz foram utilizadas como *query* para identificação de genes candidatos no genoma de *Coffea canephora* recentemente sequenciado, por meio dos programas de busca de homologia BLASTp e tBLASTn. 24 genes candidatos foram identificados, sendo 9 genes receptores, 6 fosfatases e 9 quinases. Os domínios protéicos característicos das respectivas famílias foram também identificados. As análises filogenéticas permitiram classificar essas proteínas nas subfamílias esperadas nas outras plantas superiores. A estrutura desses genes candidatos foi elucidada e eles foram funcionalmente anotados no genoma de referência de *C. canephora*. Por meio de análises *in silico*, foi observada uma expressão diferencial desses genes em diferentes tecidos tais como folhas, frutos, raízes e órgãos florais. Os genes candidatos apresentam-se também diferencialmente expressos em raízes de clones tolerantes (Cc14, Cc73, Cc120) e sensível (Cc22) à seca de *C. canephora* Conilon cultivados em condição de déficit hídrico. Tais resultados contribuem para elucidar o determinismo genético da tolerância à seca, essencial para obter marcadores moleculares que podem ser utilizados em programas de melhoramento do cafeeiro.

Apoio: Consórcio Pesquisa Café, CIRAD e Capes Cofecub.

¹ Biotecnologia, doutorado, Universidade Federal de Lavras-UFLA/SupAgro-Montpellier

² Biologia Celular e Molecular de Plantas, Ph.D., CIRAD UMR AGAP, Montpellier

³ Biologia, graduação, Universidade Paulista-UNIP

⁴ Biotecnologia, mestrado, Universidade Federal de Lavras-UFLA

⁵ Ciências Genômicas e Biotecnologia, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

⁶ Biotecnologia Vegetal, Ph.D., Universidade Federal de Lavras-UFLA

⁷ Genética Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

102 - OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA DE GC/MS ACOPLADA A “HEADSPACE” ESTÁTICO PARA DISCRIMINAR E IDENTIFICAR COMPOSTOS VOLÁTEIS DE PLANTAS TÓXICAS BRASILEIRAS [Optimization of a GC/MS coupled to static headspace technique for discriminate and identify volatile compounds from toxic Brazilian plants]

Rocha, M.R.¹; Murray, G.²; Grossi-de-Sá, M.F.³; Rocha, T.L.⁴; Polez, V.L.P.³

Intoxicações por plantas são responsáveis por prejuízos econômicos significativos na pecuária em varias regiões do mundo. No Brasil, plantas tóxicas podem matar mais do que raiva e botulismo alcançando até um milhão de óbitos anualmente, portanto acarretando grandes perdas econômicas para o setor. A planta *Palicourea marcgravii* é conhecida por sua ampla distribuição, alta toxicidade, e também pelo efeito cumulativo no organismo do animal. O objetivo do presente trabalho foi otimizar um método de extração e cromatografia que possibilite a obtenção de diferentes compostos voláteis da planta *P. marcgravii*. O uso de métodos de extração distintos é uma importante estratégia para a obtenção de compostos químicos não identificados anteriormente. Folhas de *P. marcgravii* foram coletadas diretamente do campo e colocadas logo em seguida em frascos com tampas de rosca (headspace). Após este procedimento os voláteis foram submetidos à cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massa (GC/MS) a fim de investigar os efeitos de temperatura sobre a biomassa (área de superfície das folhas). O aprimoramento da manutenção dos voláteis pelo uso de tampas de rosca, da temperatura (45°C) e também das condições do GC/MS se fez necessário para um melhor aproveitamento do “headspace”. A identificação dos compostos presentes no “headspace” foi realizada utilizando-se o programa AMDIS (Atomic and Molecule Data Information System) e a biblioteca virtual NIST (Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia). Os resultados para as variáveis utilizadas propiciaram a obtenção de cromatogramas com picos de diferentes intensidades. O pico de maior intensidade, ou seja, com maior concentração do componente da amostra, levou a obtenção de um espectro de massa com correspondência na biblioteca NIST de mais de 90% para um composto volátil derivado do ácido salicílico. Este possui ação repelente contra carrapatos e desempenha um importante papel na ativação de respostas de defesa de inúmeras plantas. Além disso, é um composto com relativa toxicidade sendo letal por ingestão e absorção pela pele quando em concentrações elevadas. O uso da técnica de “headspace” juntamente com GC/MS permitiu a obtenção de perfis cromatográficos para um melhor entendimento da planta *P. marcgravii*, e poderá ser utilizada como uma ferramenta para estudos de outras espécies de plantas brasileiras.

¹ Medicina Veterinária, graduação, União Pioneira Faculdades Integradas-UPIS

² Química, Ph.D., Pesq. Visitante, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Bioquímica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

103 - OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLO PARA PRODUÇÃO DE PLANTAS COMPOSTAS DE UMA CULTIVAR BRASILEIRA DE AMENDOIM MEDIADO POR TRANSFORMAÇÃO COM *Agrobacterium rhizogenes* [Optimization protocol for production of composite plants of a Brazilian cultivate of peanut mediated by *Agrobacterium rhizogenes*]

Martins, A.C.Q.¹; Oliveira, T.N.²; Guimarães, L.A.³; Brasileiro, A.C.M.⁴; Guimarães, P.M.⁴

O amendoim é uma das oleaginosas mais cultivadas em todo o mundo possuindo alto valor nutricional, mas é suscetível a condições ambientais adversas, pragas e doenças, com perdas muito grandes decorrentes da ação de patógenos, o que leva ao aumento no uso de agroquímicos para o controle dessas pragas. Com o avanço nas tecnologias de sequenciamento, uma grande quantidade de sequências tem sido disponibilizada, provenientes de diferentes tecidos de amendoim submetidos a distintos tratamentos. Porém, para a maioria das sequências identificadas, pouco se sabe sobre sua função biológica e até mesmo sobre os mecanismos de controle genético das principais características agrônômicas. A transformação genética é uma excelente ferramenta para piramidação genética de características de interesse agrônômico e validação de genes candidatos. No entanto, o amendoim é uma espécie recalcitrante, o que dificulta estudos com transformação genética. Vários métodos de transformação testados em amendoim mostraram-se muito laboriosos, demandando muito tempo e com baixa eficiência de transformação. Ao contrário disso, a transformação de plantas compostas de amendoim induzidas por *Agrobacterium rhizogenes* (bactéria causadora de raiz em cabeleira), tem-se mostrado um sistema de transformação simples, genótipo independente, eficiente e rápido, propiciando sua aplicação em estudos de transdução de sinais, interação planta-patógeno, validação funcional de genes, dentre outros. Com isso, o objetivo desse trabalho foi obter raízes transgênicas de *A. hypogaea* cv. IAC 886 utilizando a cepa K599 de *A. rhizogenes* contendo o vetor binário pPZP_201BK_EGFP_RLP 2 para transformação de planta composta. A eficiência de transformação de plantas compostas, após 45 dias, foi de aproximadamente 60%, confirmadas pela expressão do gene GFP (*Green Fluorescent Protein*). Essa estratégia de transformação poderá ser utilizada para avaliar o potencial do gene como candidato para conferir tolerância a estresses abióticos e resistência à fitopatógenos.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

104 - PERFIL DE EXPRESSÃO DE GENES CANDIDATOS EM GENÓTIPOS CONTRASTANTES DE *Arachis* DURANTE INFECÇÃO COM *Meloidogyne arenaria*

Oliveira, T.N.¹; Guimarães, L.A.²; Martins, A.C.Q.³; Morgante, C.V.⁴; Guimarães, P.M.⁵; Brasileiro, A.C.M.⁵

O nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.), parasita de raízes, desenvolveu sofisticadas estratégias para infectar plantas, causando perdas de produtividade em todo o mundo. Fontes de resistência para *M. arenaria*, a espécie de nematóide mais prejudicial ao amendoim (*Arachis hypogaea*), foram identificadas em seus parentes silvestres *A. cardenasii*, *A. batizocoi* e *A. stenosperma*. Até o presente momento, a resistência a *M. arenaria* em amendoim foi introduzida a partir de uma única fonte, vinda de *A. cardenasii*. No entanto, o mecanismo de resistência dos parentes silvestres de amendoim contra este fitoparasita não foi determinado. Com o objetivo de identificar novas fontes de resistência a *M. arenaria* e contribuir para a elucidação dos mecanismos genéticos e moleculares que levam *A. stenosperma* à reação de hipersensibilidade em resposta à infecção por *M. arenaria*, oito bibliotecas de cDNA foram construídas a partir de raízes de *A. stenosperma* (acesso V10309) inoculadas com *M. arenaria* em 3, 6 e 9 dias após a infecção (DAI). Essas bibliotecas foram sequenciadas usando a plataforma *Illumina Hi-Seq 2000* e 38.241.633 leituras foram produzidas com um tamanho médio de 200 bp a partir das quais foram montados 44.133 contigs. Análises *in silico* e por RT-qPCR revelaram que 22 genes se expressaram diferencialmente em raízes inoculadas de *A. stenosperma* em relação ao seu controle não inoculado. A expressão diferencial desses genes foi então avaliada por RT-qPCR em uma cultivar suscetível de *A. hypogaea* (cv. Runner), inoculado com *M. arenaria* em um “pool” de amostras coletadas em 3, 6 e 9 DAI. Alguns dos 22 genes candidatos mostraram um perfil de expressão oposta na cultivar suscetível de *A. hypogaea* em relação ao genótipo resistente *A. stenosperma*, o que poderia indicar seu papel potencial na reação de hipersensibilidade ao nematóide.

Apoio: Embrapa, CNPq, FAP-DF e Generation Challenge Program.

¹ Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

⁴ Genética e Melhoramento de Plantas, Ph.D., Embrapa Semi-Árido

⁵ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

105 - PRODUÇÃO DE PLANTAS TRANSGÊNICAS DE TOMATEIRO COM TOLERÂNCIA AO HERBICIDA CONTAIN® [Production of transgenic tomato plants with tolerance to the herbicide Contain®]

Silva, S.B.¹; Carrijo, J.²; Lacorte, C.³

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é uma das hortaliças de maior importância cultivadas no Brasil. Cerca de 60.000 ha/ano de tomate são cultivados em diversas regiões do país, com uma produção de 3 milhões de toneladas. A incorporação de características de valor agrônomo a cultura do tomateiro, como a tolerância a herbicidas, por exemplo, pode contribuir para a redução no custo de produção desta hortaliça, em função da crescente escassez de mão de obra nas áreas produtoras. Desta forma, o objetivo deste trabalho é testar a tolerância ao herbicida Contain® em plantas transgênicas de tomateiro. A sequência do gene Ahasmutado foi clonado ao vetor pCambia2300, no sítio de restrição XhoI. Após clonagem e caracterização molecular em *Escherichia coli*, o vetor pCambia2300-ahas foi transformado em *Agrobacterium tumefaciens* (linhagem EHA105) por eletroporação. Sementes da variedade modelo Microtom foram germinadas e explantes de cotilédones inoculadas com *A. tumefaciens*. Os explantes foram colocados em meio de cocultura (meio MS 1 mg/L de benzilaminopurina – BAP), por dois dias. Após este período os explantes foram transferidos para meio de seleção contendo hormônio de crescimento Zeatina (1 mg/L), o antibiótico Tioxin (ticarcilina disódica/clavulanato de potássio - 300 mg/L), e um agente de seleção (100 mg/L de canamicina ou 0.04 µM de Contain®) e cultivados em câmara de crescimento com fotoperíodo de 16 horas. Com o aparecimento de calos e brotos, estes foram transferidos para meio de cultura sem reguladores de crescimento, para enraizamento. Plântulas regeneradas *in vitro* foram analisadas por PCR, aclimatadas e transferidas para casa de vegetação, para a produção de sementes. Sementes da geração F1 foram germinadas e, após 20 dias pulverizadas com o herbicida Contain®, juntamente com plantas controle (não transgênicas). Plantas transgênicas de tomaterio foram tolerantes na concentração correspondentes a 200 mg/há, o que representa o dobro da concentração necessária para inibição do crescimento das plantas não transgênicas.

¹ Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia, mestrado, Universidade Católica de Brasília-UCB

³ Biotecnologia Vegetal, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

106 - PROLINA COMO UMA MEDIDA DE ESTRESSE NAS PLÂNTULAS IN VITRO CAUSADO POR TEMPERATURA BAIXA E SORBITOL NO MEIO DE CULTURA [Proline as a measure of stress on *in vitro* plantlets caused by low temperature and sorbitol in culture medium]

Lemos, F.O.¹; Luz, T.C.L.A.²; Matsumoto, K.³

A conservação *in vitro* de germoplasmas vegetais é um método que contribui para redução de riscos de extinção das espécies, no caso de desastres climáticos, ataques de pragas, doenças, entre outros. Além disso, contribui para aumento da produção de diversas espécies e pode facilitar o intercâmbio dos germoplasma quando necessário. Ao conservar germoplasma *in vitro* é feita uma monitoração para acompanhar o crescimento de caule, formação de raízes e outros fatores, verificando assim o período necessário para serem subcultivados. A redução do crescimento e o aumento da durabilidade das plantas permitem um maior período de conservação prolongando assim o tempo de subcultura, sendo esse o objetivo da pesquisa. Inoculou-se os segmentos nodais de 10 a 15 mm da planta *Pfaffia glomerata* em tubos de ensaio com dois tipos de meio de cultura MS, um acrescido de sorbitol e outro sem sorbitol. Após a inoculação, as culturas foram deixadas por três semanas na câmara de crescimento (25°C) com luz de 30 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ e 12 horas de fotoperíodo. Após esse período os tubos com plântulas foram transferidos para as câmaras de conservação de 25°C, 20°C e 7°C. As análises de prolina foram realizadas através de leitura em espectrofotômetro, após um e três meses de cultivo. O tratamento com meio de cultura MS adicionado de 40 g/L de sorbitol e temperatura de 7°C, apresentou maior concentração de prolina e crescimento reduzido sem amarelecimento foliar que os demais tratamentos. O sorbitol no meio de cultura e a temperatura de 7°C promoveu maior estresse às plântulas *in vitro* resultando em maior acúmulo de prolina nos tecidos reguladores de osmoralidade nas plantas. O nível da prolina variou dependendo dos acessos de germoplasma, sugerindo que a tolerância aos estresses esteja controlada geneticamente.

¹ Química, graduação, Universidade Estadual de Goiás-UEG

² Biologia Celular, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Agrobiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

107 - PROSPECÇÃO E AVALIAÇÃO DE EXTRATOS OBTIDOS A PARTIR DE PLANTAS DA FAMÍLIA SOLANACEAE VISANDO AO CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* [Prospection and evaluation of extracts obtained from Solanaceae plants aiming to control *Meloidogyne incognita*]

Silverio, B.C.¹; Soll, C.B.²; Costa, T.G.³; Polez, V.L.P.⁴; Rocha, T.L.⁵

O Brasil exerce atualmente um papel fundamental na agricultura mundial; porém, parte da produção do país está sendo prejudicada e dizimada pelo ataque de fitonematóides. A espécie *Meloidogyne incognita* se destaca por causar galhas que diminuem a eficiência das raízes das plantas, acarretando baixa produtividade e rentabilidade do material cultivado. Essa espécie de nematóide causa prejuízos anuais a culturas de algodão, café, feijão e soja. Para o controle deste fitonematoide, algumas alternativas têm sido utilizadas, como a aplicação maciça de defensivos agrícolas sintéticos. Contudo, esta estratégia gera efeitos bastante adversos para o solo e para o próprio produtor agrícola. A preocupação da comunidade científica, bem como da sociedade, vem crescendo em relação aos problemas ambientais. Neste contexto, muitas pesquisas têm sido realizadas visando à obtenção de produtos naturais biocidas. Assim, o objetivo deste trabalho está centrado na prospecção de extratos vegetais nematotóxicos que apresentam atividade nematicida e/ou nematostática para o controle de *M. incognita*. Para tanto, sementes de quatro plantas distintas pertencentes à família Solanaceae foram trituradas, e sete gramas de cada material foram transferidos para tubos Falcon de 50 mL e posteriormente ressuspenso em 40 mL de água destilada. Após este procedimento, os tubos foram mantidos sob agitação na câmara fria por 12 horas, e o homogeneizado foi coado individualmente em gaze. Os filtrados foram coletados e centrifugados por 60 minutos a 10.000 g, sob 4°C, e os sobrenadantes filtrados com o auxílio de um filtro de membrana de 0,45 µm e liofilizados. Bioensaios foram realizados em triplicata com o volume final de 500 µL. Em cada microtubo, foram adicionados 60 juvenis de segundo estágio (J2), além do extrato aquoso na concentração final de 1 mg/mL; como controle positivo, foi utilizado álcool 70%, e como controle negativo água destilada. Após 48 horas em temperatura ambiente, foi realizada a contagem dos J2, o que demonstrou a paralisação de todos os juvenis em todas as amostras testadas. Em seguida, foi realizado o ensaio de recuperação, que consistiu na centrifugação e subsequente lavagem de cada uma das amostras por três vezes e na manutenção dos nematoides em H₂O_d por mais 12 horas. Após este procedimento, foi processada novamente a contagem dos nematoides. Os extratos das plantas 1, 2, 3 e 4 mantiveram, respectivamente, 72%, 89%, 69% e 100% dos J2 paralisados e vacuolizados, confirmando o efeito nematicida. Os resultados obtidos neste estudo revelam que extratos de sementes de plantas da família Solanaceae são candidatos potenciais para o controle de *Meloidogyne incognita*.

¹ Biomedicina, graduação, Centro Universitário de Brasília-UniCEUB

² Biologia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

³ Biologia Molecular, doutorado, Universidade Católica de Brasília-UCB

⁴ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁵ Bioquímica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

108 - REGENERAÇÃO E TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE CALOS EMBRIOGÊNICOS DE *Elaeis* spp. (DENDÊ) [Regeneration and genetic transformation of embryogenic calli from *Elaeis* spp. (palm oil)]

Maia, F.C.O.¹; Andrade, C.M.²; Cabral, G.B.³; Aragão, F.J.L.³

A espécie *Elaeis guineensis* (dendzeiro africano), planta monocotiledônea pertencente à família *Aracaceae*, é oriunda da África ocidental e desde então tem se espalhado por diversos países. A cultura de tecidos vegetais oferece grandes vantagens, sendo muito importante para a propagação vegetativa do dendzeiro. Além disso, a possibilidade de regenerar células ou tecidos transformados com genes de interesse tem sido empregada para produção de plantas comerciais e multiplicação de parentais. Calos embriogênicos foram induzidos a partir de embriões zigóticos maduros do genótipo C2528, em meio MS modificado (MIC – Meio de Indução de Calos), de acordo com Teixeira *et al.* (1995). Parte dos calos embriogênicos obtidos está sendo cultivada em subseqüentes meios para a conversão de embriões somáticos em plântulas; enquanto que, outra parte está sendo repicada para proliferação dos calos embriogênicos, e foram utilizados nos experimentos de transformação genética via biobalística. Calos embriogênicos foram bombardeados com os vetores pAct1D, PBI426 e pAHC27, contendo o gene *gus* dirigido pelo promotor pAct1 (actina de arroz), promotor 35S do CAMV e o promotor pUbi1 (ubiquitina de milho), respectivamente. A força do promotor foi avaliada pela expressão da GUS em teste histoquímico três dias após o bombardeamento. As condições físicas para o bombardeamento de calos embriogênicos e embriões zigóticos de dendê foram avaliadas, assim como a curva de seleção com o herbicida glifosinato de amônio para selecionar embriões transformados. Assim sendo, um sistema de seleção foi estabelecido, e será possível selecionar células de dendê transformadas que irão formar embriões somáticos e plântulas geneticamente modificadas.

Apoio: Cenargen e CNPq.

¹ Agronomia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia Celular e Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

109 - REVISÃO CITOTAXONÔMICA DO GÊNERO *Axonopus*, SÉRIE *Axonopus* (POACEAE) DOS BIOMAS PAMPA, PANTANAL E MATA ATLÂNTICA [Cytotaxonomic review of *Axonopus*, series *Axonopus* (Poaceae) from the Pampa, Pantanal and Atlantic Forest Biomes]

Silveira, A.D.¹; Pozzobon, M.T.²; Santos, S.³; Custodio, A.R.⁴; Valls, J.F.M.⁵

O gênero *Axonopus* é um dos componentes importantes da diversidade da vegetação campestre brasileira. Apesar da disponibilidade de conhecimento sobre o modo de reprodução de várias espécies da série *Axonopus*, tratamentos taxonômicos recentes, com abrangência regional variável, baseiam-se apenas na análise morfológica, desprezando as conclusões de análises reprodutivas prévias. Com o objetivo de homogeneizar o conhecimento para os três biomas e estabelecer um padrão que gere uma conceituação segura das espécies, foram analisados materiais de espécies da série *Axonopus*: *A. affinis*, *A. compressus*, *A. fissifolius*, *A. jesuiticus*, *A. marginatus*, *A. obtusifolius*, *A. polystachyus* e *A. purpusii*, além de eventuais novos táxons. O estudo englobou a revisão de herbários, viagens de coleta de germoplasma, observações das populações a campo, estabelecimento de coleções de plantas vivas, estudos citogenéticos e aplicação de descritores morfológicos. A análise conjunta dos dados permitirá refutar a sinonimização considerada inadequada de *A. affinis* sob *A. fissifolius*, *A. jesuiticus* sob *A. compressus* e de *A. obtusifolius* sob *A. furcatus*. Resultados preliminares da análise morfológica mostram características evidentes da separação destas espécies. *Axonopus fissifolius* (2n=40) possui espiguetas de menor porte em relação a *A. affinis* (2n=80) e, além disto, pode-se observar a base da espiguetas formando duas estruturas pontiagudas, característica não observada em *A. affinis*. Em *A. jesuiticus* (2n=40), tem-se a presença de inovações extravaginais, ausentes em *A. compressus* (2n=60). Ao contrário de *A. compressus*, *A. jesuiticus* possui lâminas glabras, além da diferença na coloração da antera e do estigma, ambos roxos em *A. jesuiticus*, amarelo e branco, em *A. compressus*. Em *A. obtusifolius* (2n=100), a inflorescência é subconjugada com dois racemos distanciados, o que não acontece em *A. furcatus* (2n=40), cuja inflorescência mostra racemos conjugados.

Apoio: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e CNPq/Capes/UnB.

¹ Botânica, mestrado, Universidade de Brasília-UnB

² Melhoramento Genético, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Assistente, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Botânica, pós-doutorado, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista Capes

⁵ Botânica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

110 - SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA PRODUZIDAS POR SÍNTESE VERDE A PARTIR DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE SUCUPIRA BRANCA (*Pterodon emarginatus*) [Synthesis and characterization of silver nanoparticles produced by green synthesis from extracts of white sucupira leaves (*Pterodon emarginatus*)]

Oliveira, G.Z.S.¹; Lopes, C.A.P.²; Silva, L.P.³

A produção de nanopartículas metálicas por rotas de síntese verde consiste na utilização de extratos de plantas ou de outros organismos vivos que contêm moléculas capazes de atuar como agentes redutores e estabilizantes desse processo, de modo a diminuir ou eliminar a utilização de solventes e reagentes tóxicos que representam ameaças à saúde humana e ao meio ambiente. Com base nisso, o presente estudo teve o objetivo de realizar a síntese, a caracterização e o monitoramento da estabilidade de nanopartículas de prata produzidas utilizando extratos de folhas de sucupira branca (*Pterodon emarginatus*). Dessa forma, inicialmente os extratos foram preparados utilizando a proporção de 1 g de folhas trituradas (5 × 5 mm) para 5 mL de água ultrapura (Milli-Q) e levados à fervura por 2 minutos. Posteriormente, a solução aquosa de nitrato de prata (concentração final de 1 mM) foi adicionada nas concentrações de 5%, 10% e 20% dos extratos aquosos para a formação das nanopartículas (NPsSB). As reações foram submetidas à temperatura de 75°C e monitoradas cineticamente por leituras espectrofotométricas (425 nm) durante 150 minutos. Em seguida, as amostras foram caracterizadas por meio das técnicas de espalhamento de luz dinâmico (DLS), potencial Zeta de superfície, microscopia de força atômica (AFM) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). Por fim, para o monitoramento da estabilidade desses sistemas foram realizadas análises por DLS uma vez por semana ao longo de 4 semanas. Foi observado que dentre as concentrações investigadas a que apresentou maior capacidade de biorredução dos íons de prata foi a de 10%, atingindo absorvância máxima, após 30 minutos de reação; esta por sua vez foi 40% maior que a concentração de 5% e 20% maior que a concentração de 20%. Por DLS essas NPsSB apresentaram diâmetros hidrodinâmicos de $66,58 \pm 1,63$ nm, índice de polidispersividade (Pdl) de $0,371 \pm 0,014$ e potencial Zeta de $-33,3 \pm 2,7$ mV. Quanto aos diâmetros secos obtidos por técnicas de investigação microscópicas, as análises por AFM e MET apontaram altura média de 33,96 nm e diâmetro médio de 33,2 nm, respectivamente. Já em relação à estabilidade durante o período de armazenamento foi observado que as diferentes concentrações de extrato testadas para produção de NPsSB não apresentaram alterações consideráveis de tamanho e de potencial Zeta. A partir desses resultados é possível inferir que os extratos aquosos das folhas de sucupira branca são capazes de induzir o processo de formação de partículas de prata em escala nanométrica com considerável estabilidade, as quais podem ser propícias para avaliação do seu potencial terapêutico em patologias cutâneas, como é o caso de cânceres de pele, levando em consideração que as NPsSB apresentam dimensões capazes de atravessar os espaços intercelulares das células do extrato córneo (100 nm³), podendo dessa forma alcançar camadas mais profundas do tecido epitelial.

Apoio: Cenargen, CNPq e Capes.

¹ Nanociência e Nanobiotecnologia, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Medicina Veterinária, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

111 - SÍNTESE VERDE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA UTILIZANDO EXTRATO AQUOSO DE FOLHAS DE *Caryocar brasiliensis* [Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Caryocar brasiliensis* leaves]

Bonatto, C.C.¹; Reis, I.G.²; Marina, C.L.F.³; Ramada, M.H.S.⁴; Abrão, F.Y.⁵; Soll, C.B.³; Polez, V.L.P.⁶; Silva, L.P.⁷

Síntese verde é o nome comum dado às rotas de síntese relativamente atóxicas, que utilizam reagentes químicos biodegradáveis e de custo baixo para sintetizar nanomateriais, tendo como iniciador da rota, um organismo biológico ou parte dele. *Caryocar brasiliensis* Camber (pequizeiro) é uma espécie arbórea nativa do bioma Cerrado com importância econômica considerável. Sendo assim, a utilização de extrato aquoso de folhas de pequizeiro como agente redutor para síntese de nanopartículas de prata (NP-Ag) torna-se promissora. O objetivo do presente estudo foi avaliar as propriedades ópticas, estruturais e biológicas de NP-Ag sintetizadas utilizando extrato aquoso das folhas de *C. brasiliensis* (CbNP-Ag). As CbNP-Ag foram sintetizadas incubando o extrato aquoso das folhas de *C. brasiliensis* (10 µg/mL) e AgNO₃ (1 mM) à 75°C por 3h. A síntese foi monitorada por espectrofotometria a 450 nm. As CbNP-Ag foram avaliadas por espectrofotometria de absorção, espalhamento de luz dinâmico, potencial Zeta de superfície e microscopia de força atômica; e suas possíveis atividades citotóxicas foram investigadas *in vitro* por meio de ensaios de concentração inibitória mínima do crescimento (MIC) de bactéria (*Escherichia coli* - ATCC 25922) e fungo (*Candida albicans* - ATCC 90028); e ensaio de viabilidade celular por MTT (brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio) em *E. coli*, fibroblastos (NIH3T3) e câncer de mama murino (4T1), e nematoides (*Caenorhabditis elegans*). Adicionalmente, as CbNP-Ag foram imobilizadas em superfícies internas de microtubos de polipropileno que foram utilizados em ensaios de inibição do crescimento de *C. albicans*. As CbNP-Ag sintetizadas apresentaram forma esférica e diâmetro médio de 59,0 ± 2,0, índice de polidispersividade de 0,461 ± 0,012, e estabilidade coloidal moderada de -24,3 ± 3,4 mV. As CbNP-Ag apresentaram MIC para *E. coli* e *C. albicans* de 8 µM e 64 µM, respectivamente. As CbNP-Ag diminuíram significativamente a viabilidade de *E. coli*, células de câncer de mama e fibroblasto em 40%, 25% e 15% respectivamente, e de *C. elegans* em 70%. As CbNP-Ag imobilizadas reduziram em 60% o crescimento do fungo *C. albicans*. Um método de síntese em uma única etapa, eco-amigável e de custo baixo foi desenvolvido para produzir NP-Ag utilizando extrato de folhas de pequizeiro e as NPs apresentaram forma esférica, tamanho reduzido e propriedades antibacteriana, antifúngica, antitumoral e nematocida.

Apoio: Embrapa, UnB, CNPq e Capes.

¹ Biologia Animal, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

⁴ Biologia Molecular, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

⁵ Farmácia, doutorado, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

⁶ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷ Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

112 - TESTES DE VIGOR PARA DETECÇÃO DE NÍVEIS PRECOCES DE DETERIORAÇÃO EM BANCO DE SEMENTES [Vigor test for early detection of deterioration levels in seed bank]

Braga, J.S.¹; José, S.C.B.R.²; Pádua, J.G.³; Queiroz, A.P.⁴

O teste de germinação utilizado na avaliação da viabilidade das sementes nos Bancos de Germoplasma detecta apenas estádios finais da deterioração, não evitando a perda de sementes e conseqüentemente perda de alelos e genótipos por erosão genética. O objetivo do trabalho foi utilizar testes de vigor capazes de identificar níveis precoces de deterioração em sementes armazenadas. Sementes de soja e cevada foram envelhecidas artificialmente, obtendo-se três lotes de sementes, incluindo sementes não envelhecidas. As sementes, após secagem, foram armazenadas nas temperaturas de 10°C, -20°C e -196°C. Nos períodos de 5, 9 e 12 meses de armazenamento foram realizados os testes de germinação e vigor pelo índice de velocidade de germinação e teste de condutividade elétrica. Ao longo do armazenamento não houve diferenças na qualidade fisiológica das sementes para o mesmo tratamento. No caso de soja, o armazenamento em nitrogênio líquido, a -196°C, não foi adequado para a conservação das sementes, nas condições desse experimento. O índice de velocidade de germinação foi um teste eficiente em discriminar os lotes de sementes de soja e cevada com diferentes qualidades fisiológicas ao longo do armazenamento, detectando estágios iniciais de deterioração. Esse teste torna-se uma alternativa viável na tomada de decisão no processo de regeneração dos acessos das Coleções.

Apoio: Cenargen.

¹ Biologia, graduação, Faculdade Anhanguera de Brasília-FAB

² Fitotecnia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Conservação e Fisiologia de Germoplasma, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁴ Biologia, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

113 - VIABILIDADE POLÍNICA EM ACESSOS DE *Mesosetum* STEUD. (POACEAE) [Pollen viability in accessions of *Mesosetum* Steud. (Poaceae)]

Ribeiro, A.R.O.¹; Cardoso, A.G.T.²; Guimarães, R.M.G.³; Oliveira, R.C.⁴; Valls, J.F.M.⁵; Pozzobon, M.T.⁶

Mesosetum Steud. é um gênero Neotropical com 25 espécies, 21 das quais citadas para o Brasil. O potencial forrageiro inerente a alguns representantes de *Mesosetum* indica importante alternativa para substituição de gramíneas exóticas africanas. *Mesosetum chaseae*, conhecida como “grama-do-cerrado”, é uma espécie autóctone que se destaca pela alta produção de massa verde, palatabilidade, composição químico-bromatológica e adaptação às condições edafoclimáticas do Cerrado e Pantanal brasileiro. Entretanto, o uso agrônomo de espécies nativas requer informações acerca da viabilidade polínica e outros parâmetros reprodutivos. Dados sobre viabilidade polínica são restritos a diferentes populações de *M. chaseae* com $2n=16$ cromossomos e meiose regular e variam de 60 e 90% de pólen viável. Visando a ampliar o conhecimento biológico das espécies de *Mesosetum*, o objetivo do presente trabalho foi estimar a viabilidade do pólen associado ao número cromossômico em distintas espécies e populações. Pólen proveniente de acessos disponíveis na casa de vegetação da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e da Universidade de Brasília foi corado com carmim-acético 2%, imediatamente após a antese. Grãos de pólen vazios, mal corados ou mal formados foram considerados inviáveis. A viabilidade foi estimada para cinco acessos: dois de *Mesosetum ansatum* (Trin.) Huhlm ($2n=8$) provenientes de Mato Grosso, um de *M. compressum* Swallen ($2n=16$) proveniente de Pernambuco, um acesso de *M. elytrochaetum* (Hack.) Swallen ($2n=24$) de Goiás e um acesso de *M. rottboellioides* (Kunth) Hitchc. ($2n=20$) de Minas Gerais. Para cada acesso foram examinadas cinco lâminas e contados, no mínimo, 1000 grãos de pólen em cada lâmina. Obteve-se uma porcentagem média de pólen viável de 98,77% em *M. ansatum*, 91,70% em *M. compressum*, 93,21% em *M. elytrochaetum* e 95,05% em *M. rottboellioides*. Independentemente do número cromossômico, todos os acessos analisados apresentaram alta viabilidade polínica. Isso pode ser explicado pela estabilidade meiótica dos acessos, analisada anteriormente. A análise da viabilidade polínica em novas populações complementada com estudos de saco embrionário será fundamental para ampliar o conhecimento reprodutivo das espécies de *Mesosetum*.

Apoio: Capes, CNPq, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e UnB.

¹ Botânica, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

³ Engenharia Florestal, graduação, Universidade de Brasília-UnB

⁴ Geociências e Meio Ambiente, Ph.D., Universidade de Brasília-UnB

⁵ Botânica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Melhoramento Genético, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

OUTROS

114 - DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE NANOESTRUTURAS CONTENDO ACETATO DE RETINOL, UM PRECURSOR DA VITAMINA A [Development and characterization of nanostructures containing retinol acetate, a vitamin A precursor]

Silva, A.B.¹; Silva, L.P.²

A vitamina A é um composto lipossolúvel sensível que deve ser preservado de agentes pró-oxidantes que podem afetar a sua integridade química e reduzir os seus benefícios fisiológicos. Para tanto, a nanoestruturação é uma abordagem alternativa promissora à utilização de sua forma livre. Com a encapsulação ou aprisionamento do ativo em nanossistemas é possível preservar as propriedades nativas deste tipo de vitamina ou seus precursores, durante tempo prolongado ou mesmo permitir a sua liberação de maneira sustentada. Os sistemas clássicos desenvolvidos em nanoencapsulamento baseiam-se em (i) formulações de base lipídica que aprisionam as vitaminas e (ii) formulações que aprisionam as vitaminas na matriz de um polímero. Estes sistemas podem constituir uma barreira fisicoquímica contra elementos pró-oxidantes, tais como radicais livres, oxigênio, luz e radiação ultravioleta, e ainda aprimorar a eficiência biológica, aumentar o tempo de prateleira, controlar a liberação de componentes ativos e prevenir o aparecimento de efeitos colaterais adversos. O objetivo do presente estudo foi desenvolver nanoestruturas aprisionando acetato de retinol, um precursor da vitamina A. Todos os procedimentos foram realizados sob condição de pouca luz (escuro). Uma amostra de acetato de retinol foi adquirida em farmácia magistral local. A identificação do acetato de retinol foi realizada com sucesso por meio de espectrometria de massa MALDI-TOF. Elaborou-se emulsões do tipo óleo em água com a proporção 1:10 (Tween 20/óleo), emulsionadas com o auxílio de ultraturrax variando o tipo de óleo, tempo e velocidade de emulsificação. As suspensões foram analisadas sensorialmente e quanto ao índice de polidispersividade, carga de superfície, *Z-average* e diâmetro hidrodinâmico (pelo número) utilizando espectroscopia de fotocorrelação e potencial Zeta de superfície. Nanopartículas também foram sintetizadas por nanoprecipitação. O polímero utilizado foi a quitosana, um subproduto agropecuário oriundo da desacetilação da quitina da carapaça de crustáceos. A suspensão resultante foi submetida a análises semelhantes àquelas descritas para as emulsões. Em seguida, em função das características observadas, as nanopartículas foram submetidas à ultraturrax em quatro diferentes condições e analisadas novamente. As emulsões apresentaram-se polidispersas, com instabilidade coloidal insipiente e *Z-average* em nanoescala. As nanopartículas obtidas por nanoprecipitação apresentaram baixa polidispersidade, boa estabilidade coloidal e diâmetro hidrodinâmico em nanômetros. Após quebra por ultraturrax houve aumento da polidispersidade e mudança no perfil das classes de tamanho das nanopartículas. As duas rotas de síntese demonstraram ser opções para a obtenção de nanoestruturas capazes de aprisionar o acetato de retinol. Contudo ambas ainda requerem aperfeiçoamentos para aplicações em filmes comestíveis e outras demandas por vitamina A.

Apoio: Embrapa, UnB, CNPq e Capes.

¹ Nanociência e Nanobiotecnologia, mestrado, Universidade de Brasília-UnB/CNPq

² Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

115 - OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLO PARA AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS [Protocol optimization for evaluation of cytotoxicity of metal nanoparticles]

Reis, I.G.¹; Bonatto, C.C.²; Marina, C.L.F.³; Soll, C.B.⁴; Polez, V.L.P.⁵; Silva, L.P.⁶

Nanopartículas sintéticas abrangem uma extensa área de aplicabilidade incluindo sistemas de entrega de drogas, protetores solares, embalagens de alimentos e sensores. Contudo, não se tem conhecimento suficiente da potencial toxicidade não intencional, da interação entre esses produtos e o ecossistema, e ainda pouco se sabe sobre os efeitos fisiológicos que nanopartículas de prata desencadeiam nos organismos dos diferentes níveis tróficos. Neste contexto, a citotoxicidade de nanopartículas tem sido extensivamente estudada, no entanto, vários desafios são encontrados devido à falta de protocolos padronizados. Diversas metodologias são utilizadas e um dos maiores desafios é identificar qual metodologia pode ser mais bem empregada tendo como base as características dos nanomateriais, minimizando assim a formação de possíveis artefatos das técnicas. Visando avaliar duas metodologias, ensaios de viabilidade celular por MTT ([3(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium]) e avaliação de taxas de sobrevivência (*Spot test*) em *Escherichia coli* XL1 Blue foram otimizados para investigar a potencial toxicidade *in vitro* de nanopartículas de prata sintetizadas a partir do extrato aquoso das folhas de *Caryocar brasiliensis* Camber (CbNP-Ag). O primeiro é um teste de viabilidade enzimática, que avalia a capacidade que a célula tem de metabolizar o MTT e o segundo teste avalia a taxa de crescimento celular. A utilização de dois protocolos diferentes corrobora para a validação dos resultados ou a nulificação dos mesmos. Essa abordagem nos permitiu inferir se estaria ocorrendo interação entre a metodologia do ensaio e as CbNP-Ag, o que poderia desencadear em falsos resultados (positivos ou negativos). No caso das CbNP-Ag o ensaio com MTT apresentou diminuição de 40% na viabilidade de *E. coli* e o *Spot test* também apresentou redução na capacidade de proliferação celular, ou seja, os dois resultados mostraram que as CbNP-Ag apresentam potencial citotóxico contra bactérias gram-negativas *E. coli*. Essas duas metodologias se mostraram eficazes e complementares na avaliação da citotoxicidade causada pelas CbNP-Ag, sendo que a aplicabilidade a outros tipos de partículas será avaliada em experimentos futuros.

Apoio: Embrapa, UnB, CNPq, FAP-DF e Capes.

¹ Biotecnologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

² Biologia Animal, doutorado, Universidade de Brasília-UnB

³ Biologia, graduação, Universidade de Brasília-UnB

⁴ Biologia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista

⁵ Biologia Molecular, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Biologia Animal e Nanobiotecnologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

116 - PRIMEIRO LABORATÓRIO BRASILEIRO ACREDITADO PELO INMETRO PARA AVALIAÇÃO DE EFICÁCIA DE PRODUTOS BIOLÓGICOS [First Brazilian laboratory accredited by Inmetro for evaluating efficacy of biological products]

Posso, M.C.¹; Praça, L.B.²; Martins, E.S.³; Macedo, C.L.⁴; Grisi, I.G.⁵; Castro, C.S.P.⁶; Frazão, H.⁷; Lima, L.H.C.⁸; Ventura, M.⁹; Amaral, Z.P.¹⁰; Santana, E.¹¹; Monnerat, R.G.¹²

A avaliação da eficácia de produtos biológicos a um alvo específico é um dos pré-requisitos para se determinar sua qualidade e eficácia e é imprescindível para o registro comercial desses no Brasil. A fim de prestar este serviço com o reconhecimento internacional de sua competência, o Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas (LBE) da Embrapa iniciou o processo de adequação à norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 para acreditar seus ensaios de determinação de toxicidade de produtos a base de *Lysinibacillus sphaericus* e de *Bacillus thuringiensis* (Bt) a mosquitos vetores de doenças humanas e de Bt a lepidópteros pragas. Esse processo foi realizado em várias etapas, iniciando pelo diagnóstico criterioso da infraestrutura e funcionamento do laboratório. Foi detectado que havia a necessidade de um mapeamento de todas as atividades, que foram posteriormente descritas, acompanhadas, revisadas passo a passo e avaliadas por auditorias internas durante 7 anos. O resultado foi a elaboração dos seguintes documentos: 38 procedimentos gerenciais, 31 procedimentos técnicos, 6 instruções técnicas, 38 procedimentos e instruções de equipamentos, plano de calibração, listas de controle de registros e de serviços críticos e diversos formulários ligados aos ensaios. Os equipamentos críticos ligados às atividades dos ensaios passaram por qualificações, calibrações e manutenções preventivas e corretivas além de toda a equipe ser treinada na ISO 17025 e em técnicas de noções de laboratório. Em 2013, o LBE passou por uma avaliação externa do Inmetro, órgão acreditador, recebendo um total de 20 não conformidades, o menor número já aplicado em uma acreditação desse tipo. Estas foram todas solucionadas através da implementação de ações corretivas e de propostas de melhoria contínua resultando, em 2014, na acreditação por este órgão para os ensaios citados acima, reconhecendo formalmente sua competência técnica. Em torno de 40 laudos foram emitidos a partir de amostras enviadas para teste, demonstrando a importância dos serviços prestados.

Apoio: Cenargen e CNPq/UnB.

¹ Farmácia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, bolsista CNPq

² Agronomia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

³ Biologia Molecular, Ph.D., Instituto Mato-Grossense do Algodão-IMAmT

⁴ Biologia Microbiana, doutoranda, Universidade de Brasília-UnB, bolsista Capes

⁵ Medicina Veterinária, B.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁶ Química, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁷ Administradora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁸ Bioquímica, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

⁹ Agronomia, M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

¹⁰ Gestora Ambiental, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

¹¹ Geografia, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

¹² Microbiologia, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

ÍNDICE DE AUTORES

(A numeração corresponde ao número do resumo)

Abrão, F.Y.....	111
Abreu, A.D.....	044
Abreu, J.A.C.	021
Agostini-Costa, T.S.	082, 094
Aguiar, A.J.C.....	001
Albuquerque, E.V.S.....	011, 038
Albuquerque, P.S.B.	085
Alcântara, L.T.A.	068
Alencar, S.A.	011
Almeida, F.F.	083
Almeida, J.D.	090
Almeida, M.R.A.	012, 014
Almeida, Z.G.	009
Alves, D.T.	093
Alves, G.S.C.	080
Alves, R.M.; Micheli, F.	085
Alves-Freitas, D.M.T.	055, 056, 059, 075
Amaral, Z.P.	116
Amorim, R.M.S.....	022
Andrade, A.C.....	080, 081, 086, 088, 101
Andrade, C.M.	108
Antonino-de-Souza Junior, J.D.	007
Aquino, S.O.	080, 086, 101
Aragão, F.J.L.	062, 084, 092, 100, 108
Araújo, A.C.G.	077, 095, 096
Araujo, L.K.P.	016, 030
Arieta-Sousa, J.	075
Ávidos, F.D.	091
Barbosa, A.V.	066, 067
Barros, L.M.G.	090
Bartholo, G.F.	086
Bastos, A.R.	039
Bemquerer, M.P.....	045
Benito, N.P.	029
Berbert, P.S.....	062
Bernardes, F.G.....	005
Bertioli, D.J.....	096
Bispo, R.	095
Blassioli-Moraes, M.C.....	023, 025, 032, 040, 043
Blawid, R.....	056
Bocs, S.	101
Boiteux, L.S.....	046, 055, 061
Bonatto, C.C.....	091, 111, 115
Borges, M.....	023, 025, 032, 040, 043
Borges, R.A.K.	038
Borges, R.C.F.	048, 073, 074
Botelho, S.R.A.	057, 066, 067
Braga, J.S.	112
Braga, T.F.	037
Brasileiro, A.C.M.	046, 061, 077, 094, 095, 103, 104

Bravo, A.	042
Burle, M.L.	089
Buso, G.S.C.	078
Cabral, G.B.	062, 084, 092, 099, 100, 108
Caixeta, C.F.	051, 058
Canela, F.M.	078
Cardoso, A.G.T.	113
Cardozo Filho, J.L.	033
Cares, J.E.	008, 012
Carmo, L.S.T.	064
Carneiro, F.A.	080, 086, 088, 101
Carneiro, R.M.D.G.	012, 014, 020, 088
Carneiro, V.T.C.	076, 079, 099
Carrijo, J.	039, 097, 105
Carvalho, A.A.	041
Carvalho, J.O.	004, 036
Carvalho, M.A.F.	086
Carvalho, N.	078
Carvalho, P.A.S.V.	082, 094
Castagnone-Sereno, P.	014
Castro, C.S.P.	072, 116
Castro, L.R.	098
Castro, M.E.B.	047, 065
Castro, M.T.	034, 048, 071, 073, 074
Cavalcante, R.S.	072
Cimas, G.A.	020
Cipriano, T.M.	084
Citadin, C.T.	092
Coelho, C.M.	093
Coelho, M.C.	093
Coelho, R.R.	007
Colombo, C.A.	077
Corrêa, J.R.	052
Correa, V.R.	012, 014
Costa, A.F.	056
Costa, D.C.	008
Costa, M.M.C.	069
Costa, T.G.	107
Costa, T.S.	086, 088, 101
Costa, A.F.	069
Cotta, M.G.	101
Craveiro, S.R.	047, 065
Cunha, A.T.M.	004, 037
Cunha, B.A.B.D.	081
Cunha, G.C.R.	095
Cunha, N.B.	093, 097
Custodio, A.R.	109
Damaceno, N.B.	009
Dias, S.C.	097
Dias, T.A.B.	089, 098
Dilly, J.L.	089
Diógenes, M.N.	019
Dode, M.A.N.	004, 017, 018, 019, 031, 037, 044, 036
Duarte, K.E.	080, 081

Duarte, M.A.G.	100
Duarte, M.F.	067
Dusi, D.M.A.	076, 079, 099
Eckstein, B.	009, 066, 074
Falcão, L.L.	045, 085, 090
Falcão, R.	068
Faria, M.R.	068
Fernandes, F.R.	057, 066, 067
Ferragut, F.	002
Ferreira, A.R.	018
Ferreira, B.C.	005, 013, 028, 065
Ferreira, L.G.	079
Ferreira, M.A.	078
Figueiredo, R.A.	015
Firmino, A.A.P.	007
Florentino, L.H.	076, 079
Fonseca, F.C.A.	011
Fonseca, L.N.	046
Fragoso, R.R.	038
Franco, M.M.	015, 017, 018, 035, 036, 037
Franco, O.L.	049, 064
Frazão, H.	116
Freitas Filho, E.G.	033
Freitas, D.S.	043
Furlaneto, C.	088
Fusaro, A.	055
Garcia, R.A.	026
Gimenes, M.A.	094
Gimenes, M.G.	082
Gomes, A.C.M.M.	065, 079
Gonzaga, V.	008
Gramacho, K.P.	085
Grattapaglia, D.	086
Grisi, I.G.	042, 116
Grossi-de-Sá, M.F.	007, 010, 011, 021, 022, 026, 038, 049, 087, 102
Grynberg, P.	047, 069
Guerra, A.F.	086
Guimarães, A.L.S.	018
Guimarães, L.A.	077, 095, 103, 104
Guimarães, P.M.	077, 095, 096, 103, 104
Guimarães, R.M.G.	113
Harterreiten-Souza, É.S.	016, 030
Hassemer, M.J.	023, 043
Inglis, P.W.	047
Irsigler, A.S.T.	079
Jamur, M.C.	033
Jank, L.	099
Jorge Júnior, A.	088
Kobayashi, A.K.	081
Kussano, N.R.	004, 017
Labuto, L.B.D.	064
Lacerda, A.L.M.	061, 046, 076
Lacorte, C.	055, 061, 097, 105
Lagôa, A.C.G.	032

Lamas, N.S.	059, 069, 075
Lau, D.	057
Laumann, R.A.	023, 025, 032, 040, 043
Leal-Bertiolli, S.C.	094
Leite, A.G.B.	007
Leme, L.O.	017, 044
Lemos, F.O.	106
Lima, A.A.	005, 013, 028, 065
Lima, E.A.	086, 088
Lima, L.H.C.	116
Lins, P.	087
Lira, P.	022
Lopes, C.A.P.	110
Lourenço, I.T.	038, 087
Luz, T.C.L.A.	106
Macedo, C.L.	009, 042, 116
Macedo, L.L.P.	022,
026 Machado, G.M.	018
Magarelli, G.	072
Maia, F.C.O.	108
Marcellino, L.H.	045, 085, 090
Marina, C.L.F.	111, 115
Marques, E.	053, 054
Marraccini, P.	080, 081, 086, 088, 101
Martins, A.C.Q.	103, 104
Martins, E.S.	005, 009, 013, 027, 028, 042, 052, 058, 116
Martins, I.	053, 054
Martins, P.K.	081
Martins, S.K.L.S.	022
Matos, V.O.R.L.	056, 059
Matsumoto, K.	106
Mattos, V.S.	012
Mehta, A.	049, 063, 064
Mello, S.C.M.	053, 054
Melo, F.	075
Melo, F.L.	069, 075
Mendes, A.C.	060
Mendes, M.A.S.	008, 050
Mendonça, A.S.	015, 035, 037
Meneguim, A.M.	040
Menezes, J.E.	053, 054
Michalczechen-Lacerda, V.A.	006, 039
Miranda, V.O.	031
Molinari, H.B.C.	081
Monnerat, R.G.	005, 009, 013, 027, 028, 034, 042, 048, 051, 052, 058, 060, 071, 073, 074, 116
Montalvão, S.C.L.	034, 048, 071, 073, 074
Monteiro, J.M.S.	012
Moraes, C.S.	089
Morais, D.P.	076
Morais, D.P.	099
Morais, S.D.M.	040
Moreira Filho, D.A.M.	065
Moreira, R.F.	045

Morgante, C.V.	104
Mota, A.P.Z.	069
Murad, A.M.	006, 039, 064, 093, 097
Murray, G.	102
Nascimento, C.D.	026
Nascimento, E.F.M.B.	096
Nascimento, F.B.	008, 050
Navia, D.	002
Nery, R.S.	002
Oliveira Neto, O.B.	049, 063, 064
Oliveira, D.M.	010
Oliveira, G.Z.S.	110
Oliveira, M.L.C.A.	009, 066
Oliveira, M.W.M.	023, 043
Oliveira, R.C.	113
Oliveira, T.N.	103, 104
Pádua, J.G.	083, 112
Palhares-Melo, L.A.M.	008, 050
Peixoto, J.R.	014
Pelegriani, P.B.	010, 021
Pereira, J.A.	076, 099
Pierdoná, H.L.	092
Pimenta, L.M.	011
Pimenta, M.	041
Pinheiro, J.B.	012
Pires, C.S.S.	001, 003, 030, 041
Pivato, I.	018
Polez, V.L.P.	102, 107, 111, 115
Poppiel, R.R.	056
Posso, M.C.	116
Pozzobon, M.T.	109, 113
Praça, L.B.	042, 051, 060, 116
Prado, G.S.	010, 021
Pujol-Luz, J.R.	016, 030
Queiroz, A.P.	112
Queiroz, P.R.M.	005, 013, 027, 028, 042, 058
Querino da Silva, R.B.	002
Quintanilha, M.V.T.	090
Ramada, M.H.S.	111
Rech, E.L.	006, 039, 064, 093
Rego, E.C.S.	080, 081, 086, 088, 101
Rego, T.F.C.	084
Reis, I.G.	111, 115
Reis, M.	075
Ribeiro, A.P.	081
Ribeiro, A.R.O.	113
Ribeiro, D.G.	049
Ribeiro, D.R.	064
Ribeiro, J.P.C.S.	024
Ribeiro, S.G.	046, 055, 056, 059, 061, 069, 075
Ribeiro, Z.M.A.	047, 065
Rios, T.B.	063
Rocha, M.R.	102

Rocha, O.C.	086
Rocha, T.L.	102, 107
Rodrigues, G.C.	086
Rodrigues, J.C.M.	079
Rodrigues, M.A.R.	045
Rodrigues, R.C.R.	028
Romano, E.	075
Rossi, M.B.	001, 003, 025
Sabiá Júnior, E.F.	027, 052, 058
Sanches, M.M.	057, 066, 067, 075
Sant'Ana, J.	023
Santana, E.	116
Santana, F.	060
Santana, R.J.S.	085
Santiago, S.D.	029
Santos, C.	049, 064
Santos, D.B.	053, 054
Santos, H.M.	042
Santos, I.R.	063
Santos, M.F.A.	014
Santos, S.	109
Sena-Netto, S.B.	015
Sihler, W.	068
Silva, A.B.	070, 114
Silva, A.K.	077
Silva, B.D.M.	031
Silva, J.B.T.	053, 054
Silva, J.P.	094
Silva, L.P.	006, 033, 044, 049, 063, 070, 091, 110, 111, 114, 115
Silva, M.C.M.	021
Silva, M.L.	029
Silva, M.S.	095
Silva, S.B.	105
Silva, S.D.	071
Silva, T.A.S.N.	031
Silva-Junior, O.B.	069
Silva-Werneck, J.O.	045, 090
Silveira, A.D.	109
Silveira, M.	039
Silverio, B.C.	107
Simon, M.F.	008, 050
Soares, C.M.S.	009, 013, 028, 042, 060, 065
Soares, F.M.	083
Soberon, M.	042
Solange, C.B.R.J.	112
Soll, C.B.	107, 111, 115
Sousa, A.A.T.C.	041
Sousa, C.A.F.	081
Sousa, M.G.	020
Souza, L.M.	003, 024, 041
Souza, M.L.	068
Souza, V.S.	013
Sprícigo, J.F.W.	018
Sujii, E.R.	003, 016, 024, 030, 041

This, D.	101
Togawa, R.C.	047, 069
Togni, P.H.B.	024
Torezani, K.R.S.	001, 003
Ulhoa, C.J.	062
Urban, A.F.	050, 072
Valls, J.F.M.	109, 113
Vasconcelos, E.A.	010
Ventura, M.	116
Viana, G.V.	093
Viana, M.C.	029
Vianna, G.R.	006, 039
Vicentini, G.C.	009
Videira, C.	095
Vidigal, B.S.	096
Vieira, N.G.	081
Vieira, P.M.	062
Villeth, G.R.C.	061
Vivian, R.	002
Williams, C.C.V.	077, 095
Zacarias, T.A.	015

ÍNDICE DE ORIENTADORES

(A numeração corresponde ao número do resumo)

Alan Carvalho Andrade.....	080, 081, 086, 088, 101
Ana Cláudia Guerra Araújo.....	095, 096
Ana Cristina M. Brasileiro	077, 104
Angela Mehta	049, 063, 064
Carmen Sílvia Soares Pires.....	001, 003, 041
Clarissa Silva Pires de Castro.....	072
Cristiano Lacorte.....	097, 105
Denise Navia	002
Edison Ryoiti Sujii	016, 024, 030
Elíbio Rech	006, 039, 093
Érika Valéria Saliba Albuquerque Freire	038
Fabienne Micheli.....	085
Francisco José Lima Aragão.....	062, 084, 092, 100, 108
Glaucia Salles Cortopassi Buso	078
José Francisco Montenegro Valls	041, 043, 109
Joseílde Oliveira Silva Werneck.....	090
Juliano Gomes Pádua	083
Kasumitsu Matsumoto	106
Luciano Paulino da Silva.....	033, 070, 091, 110, 111, 114, 115
Lucília Helena Marcellino	085
Marcelo Bemquerer	045
Márcio Martinelo Sanches	057, 066, 067
Marcos Aparecido Gimenes.....	082, 094
Margot Alves Nunes Dode	004, 018, 019, 031, 036, 044
Maria Carolina Blassioli Moraes.....	023, 043
Maria Elita Batista de Castro.....	047, 065
Maria Fátima Grossi-de-Sá	007, 010, 011, 021, 022, 026, 087
Marília Lobo Burle	089
Marisa Toniolo Pozzobon	113
Marlinda Lobo de Souza	068
Marta Aguiar Sabo Mendes	050
Maurício Machaim Franco	017, 035, 037
Miguel Borges.....	023, 025, 040
Norton Benito Polo.....	029
Patrícia Messenberg Guimarães.....	103
Raúl Alberto Laumann	032
Regina Maria Dechechi Gomes Carneiro.....	012, 014, 020
Ricardo Alaminio Figueiredo.....	015
Rose Gomes Monnerat.....	005, 009, 013, 027, 028, 034, 042, 048, 051, 052, 058, 060, 071, 073, 074, 116
Simone da Graça Ribeiro.....	046, 055, 056, 059, 061, 069, 075
Solange Roveri José.....	112
Sueli Corrêa Marques de Mello.....	053, 054
Terezinha Aparecida Borges Dias.....	098
Thales Lima Rocha.....	107
Vera Lúcia P. Polez	102
Vera Tavares de Campos Carneiro.....	076, 079, 099
Vilmar Gonzaga	008

ÍNDICE DE INSTITUIÇÕES

(A numeração corresponde ao número do resumo)

Biolife Brasil Ltda – 021

Capes – 004, 009, 011, 014, 016, 017, 018, 019, 020, 022, 023, 026, 030, 031, 033, 034, 035, 037, 038, 041, 044, 047, 048, 053, 054, 060, 064, 065, 070, 071, 073, 074, 078, 079, 080, 081, 082, 084, 085, 096, 100, 101, 109, 110, 111, 113, 114, 115, 116

Centro Universitário de Brasília – 009, 013, 022, 028, 041, 095, 107

Centro Universitário Unieuro – 063, 064

Cepac/Ceplac – 085

Cirad – Montpellier – França – 080, 081, 086, 088, 101

CNPq – 002, 005, 007, 009, 010, 012, 013, 014, 016, 018, 020, 024, 025, 028, 030, 032, 033, 036, 037, 038, 040, 043, 045, 046, 047, 049, 055, 056, 061, 062, 063, 064, 068, 069, 070, 072, 075, 076, 077, 078, 082, 084, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 094, 095, 099, 103, 104, 108, 109, 110, 111, 113, 114, 115, 116

Consórcio Pesquisa Café – 080, 086, 088, 101

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – 011, 015, 020, 024, 029, 038, 040, 046, 049, 053, 054, 055, 057, 061, 063, 064, 066, 067, 069, 070, 077, 082, 085, 090, 091, 104, 111, 114, 115

Agroenergia – 081

Amazônia Oriental – 085

Café – 086

Cerrados – 038, 086

Gado de Corte – 099

Hortaliças – 012, 046, 055, 061

Informática Agropecuária – 086

Meio Norte – 002

Produtos e Mercados – 002

Quarentena Vegetal – 057, 066, 067

Recursos Genéticos e Biotecnologia – 001, 002, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 010, 012, 013, 014, 016, 017, 018, 019, 021, 022, 023, 025, 026, 027, 028, 030, 031, 032, 033, 034, 035, 036, 037, 039, 041, 042, 043, 044, 045, 047, 048, 050, 051, 052, 056, 058, 059, 060, 062, 065, 068, 071, 072, 073, 074, 075, 076, 078, 079, 080, 081, 083, 084, 086, 087, 088, 089, 092, 093, 094, 095, 096, 097, 098, 099, 100, 101, 102, 103, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 112, 113, 116

Semi-Árido – 104

Trigo – 057

Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz – 004

Faculdade Anhanguera de Brasília – 008, 029, 050, 066, 067, 083, 112

Faculdades ICESP-Promove de Brasília – 009, 068

FAP-DF – 018, 036, 037, 040, 055, 061, 069, 077, 104, 115

FAPEMIG – 015

Fundo Embrapa/Monsanto – 046

Generation Challenge Programme – 104

Grupo Agrosalgueiro – 029

IMAmt – 005, 009, 013, 027, 028, 042, 052, 058, 060, 065, 116

INRA-França – 014

Instituto Agrônomo de Campinas – 077

Instituto Agrônomo de Pernambuco – 056, 069

Instituto Agrônomo do Paraná – 040

Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública – 111

Instituto Federal de Brasília – 076, 099

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia-Café – 081, 086

Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia-Interação Planta Praga – 055, 061, 069
Max Planck-Berlim – 007
União Pioneira de Integração Social – 102
Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca-Morelos – 042
Universidad Politécnica de Valencia-Espanha – 002
Universidade Católica de Brasília – 002, 009, 010, 011, 020, 021, 022, 026, 029, 039, 040, 045, 049, 057, 064, 066, 067, 080, 086, 087, 088, 093, 097, 101, 105, 107
Universidade de Brasília – 001, 003, 004, 005, 006, 007, 008, 009, 012, 014, 015, 016, 017, 018, 019, 022, 023, 026, 027, 030, 031, 032, 033, 034, 037, 038, 039, 042, 043, 044, 047, 048, 051, 052, 056, 058, 059, 060, 062, 063, 065, 069, 070, 071, 072, 073, 074, 075, 078, 079, 081, 084, 086, 088, 089, 090, 091, 092, 093, 095, 096, 098, 100, 103, 104, 105, 108, 109, 110, 111, 113, 114, 115, 116
Universidade de São Paulo – 033, 036, 045
Universidade do Distrito Federal – 053, 054
Universidade do Estado de Goiás – 106
Universidade do Estado de São Paulo – 018, 082, 094
Universidade Estadual de Santa Cruz – 085
Universidade Federal de Goiás – 062
Universidade Federal de Lavras – 080, 081, 086, 088, 101
Universidade Federal de Uberlândia – 004, 015, 017, 035, 037
Universidade Federal de Viçosa – 081
Universidade Federal do Paraná – 021
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – 023
Universidade Paulista – 024, 049, 063, 064, 065, 076, 080, 081, 086, 088, 099, 101
Universidade Vila Velha – 001, 003, 025



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

